



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

EFEITOS TOXICOLÓGICOS DO GLIFOSATO

Trabalho submetido por
Zainab Abdul Aziz
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

dezembro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

EFEITOS TOXICOLÓGICOS DO GLIFOSATO

Trabalho submetido por
Zainab Abdul Aziz
para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof.(a) Doutora Maria Edite da Silva Oliveira Torres

dezembro de 2020

Dedicatória

Aos meus **Pais**, que sempre apoiaram as minhas decisões e permitiram que os meus sonhos se realizassem. Agradeço todo o vosso amor, apoio, carinho, dedicação, amizade e paciência. Serei para sempre grata.

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a **Deus**, pelo concretizar de mais um sonho, cujo percurso foi bastante longo e abundante em obstáculos.

À minha estimada orientadora, **Professora Doutora Maria Edite da Silva Oliveira Torres**, deixo a minha palavra de apreço e gratidão profunda, pela sua atenção, apoio e incansável compreensão, que foram determinantes para a realização desta monografia.

Agradeço ao **Instituto Universitário Egas Moniz**, ao seu corpo docente e não docente. Esta foi a minha segunda casa ao longo destes anos e facultou-me todos os meios necessários para a minha formação.

Quero deixar, também, um agradecimento à **Dra. Cláudia Santos** e à **Dra. Lúcia Soares do Hospital Beatriz Ângelo** e a toda a sua equipa dos Serviços Farmacêuticos, por todos os conhecimentos que me foram transmitidos ao longo do meu estágio curricular. Um agradecimento especial ao **Dr. Joaquim Carrilho** e a toda a equipa da **Farmácia Joleni**.

Um especial e sentido agradecimento à minha família e às minhas amigas: aos meus **Pais**, pelo incansável e infinito apoio durante esta jornada. Aos meus **irmãos**, por todo apoio, força, amizade e amor que depositaram em mim. Aos meus **sogros e cunhado**, obrigada pela compreensão e pelos sacrifícios a que foram sujeitos durante as minhas forçadas ausências, de modo a poder dedicar-me a este projeto. Ao meu **marido Furkan**, agradeço e reconheço a grande amizade, suporte, amor, carinho, compreensão, paciência e companheirismo que me concedeu. Aos meus queridos **filhos Sumeiyah e Umar**, a quem lhes subtraí tempo e atenção e a quem lhes roubei a mãe, em prol deste objetivo. À minha amiga e colega **Beatriz**, que está comigo desde o dia número um. E às minhas amigas **Fátima, Rubina, Safiya e Sumeiya**, que não fazem ideia de quando e como fizeram a diferença, para eu erguer depois de cada queda da vida.

Finalmente, quero agradecer à **Carmen Garcia**, enfermeira e autora do *blog* - A Mãe Imperfeita, que mesmo na reta final deste trabalho, quando tudo parecia impossível, veio me relembrar porque é que comecei esta jornada e deu-me a dose certa de coragem para terminar esta monografia.

Resumo

O glifosato é um herbicida de largo espectro sintético e não seletivo, sendo mesmo o mais utilizado na agricultura para o controlo de ervas. O seu efeito herbicida advém de inibir uma enzima essencial no ciclo de vida das plantas, a 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase. Esta enzima participa na via chiquimato, uma via metabólica usada pelas plantas e algumas bactérias na síntese de folatos e aminoácidos. Visto que, esta enzima não está presente nos mamíferos, a utilização do glifosato tem sido referida como potencialmente segura.

Com a contaminação ambiental e a crescente sobredosagem, podem haver resíduos nos alimentos, no ar, solos e água. Foram realizados muitos estudos em que, se analisou o teor de glifosato nos alimentos e apesar destes não se encontrarem acima dos valores máximos estabelecidos de resíduos, a verdade é que, ainda não são claras as consequências a nível da saúde. Além disso, a exposição ambiental parece ter cada vez maior relevância.

Assim, e apesar de variadas agências reguladoras internacionais terem classificado o glifosato como seguro e não tóxico, a IARC classificou-o como potencialmente cancerígeno. Mais, vários cientistas têm vindo a estudar os efeitos deste composto a vários níveis, conforme abordado ao longo desta dissertação.

Nesta monografia fez-se uma revisão do estado de arte mais recente no que toca aos potenciais efeitos tóxicos do glifosato, em particular nos sistemas hepatorenal, neurológico, cardiovascular e reprodutivo e os seus eventuais efeitos carcinogénicos e teratogénicos. Foram também abordadas as lesões e os sintomas encontrados no caso de intoxicações agudas.

Esta monografia contribui para uma integração atual dos estudos sobre os vários efeitos nocivos deste composto nos organismos, com os potenciais mecanismos de ação, e em estudos populacionais. São também apresentadas as limitações existentes e a necessidade de se incluírem metodologias mais rigorosas, nomeadamente nos estudos epidemiológicos, para se afirmar, com rigor e segurança a toxicidade do glifosato.

Palavras-chave: Glifosato; Herbicida; Efeitos Toxicológicos; Toxicologia.

Abstract

Glyphosate is a synthetic and non-selective broad spectrum herbicide, which have been mostly used in the agriculture for the control of herbs. Its herbicide effect comes from inhibiting an essential enzyme in the plants life cycle, the 5-enolpyruvylchiquimate-3-phosphate synthase. This enzyme participates in the chiquimate pathway, a metabolic pathway used by plants and some bacteria in the synthesis of folates and amino acids. Since this enzyme is not present in mammals, the use of glyphosate has been reported as potentially safe.

There may be residues in food, air, soil and water with environmental contamination and increasing overdose. Many studies have been carried out in which the glyphosate content in food has been analysed and although these are not above the maximum established residue values, the fact is that the health consequences are still unclear. In addition, environmental exposure seems to be increasingly relevant.

Thus, and although several international regulatory agencies have classified glyphosate as safe and non-toxic, IARC classified it as potentially carcinogenic. Moreover, several scientists have been studying the effects of this compound at various levels, as discussed throughout this dissertation.

In this monography, a review of the most recent state-of-the-art regarding the potential toxic effects of glyphosate, in particular on the hepatorenal, neurological, cardiovascular and reproductive systems and its possible carcinogenic and teratogenic effects was made. The lesions and symptoms found in the case of acute intoxications were also addressed.

This monography contributes to a current integration of studies on the various harmful effects of this compound on organisms, with potential mechanisms of action, and in population studies. The existing limitations and the need to include more rigorous methodologies, particularly in epidemiological studies, to affirm the toxicity of glyphosate with accuracy and safety are also presented.

Keywords: Glyphosate; Herbicide; Toxicological Effects; Toxicology.

Índice geral

Resumo	1
Abstract	3
Índice de figuras	7
Índice de tabelas	9
Lista de Abreviaturas	11
1. Introdução.....	13
2. Glifosato	15
2.1. Utilização como herbicida	16
2.2. Resíduos de glifosato.....	17
2.3. Enquadramento legal do glifosato.....	20
2.4. Mecanismo de ação do glifosato	21
2.5. Toxicocinética do glifosato	23
3. Efeitos tóxicos do glifosato.....	25
3.1. Hepatotoxicidade e nefrotoxicidade	25
3.2. Efeitos neurológicos	29
3.3. Efeitos cardiovasculares	32
3.4. Efeitos a nível do cancro.....	34
3.5. Efeitos ao nível do sistema reprodutor e teratogénicos	38
3.6. Outros efeitos toxicológicos	40
4. Discussão e conclusão.....	49
5. Referências bibliográficas.....	53

Índice de figuras

Figura 1 – Publicações indexadas no Pubmed sobre glifosato.....	2
Figura 2 – Estrutura química do glifosato.....	3
Figura 3 – Degradação do glifosato em AMPA.....	4
Figura 4 – Via chiquimato com o local de atuação do glifosato.....	9
Figura 5 – Correlação entre crianças com autismo e a utilização de herbicidas com glifosato nos Estados Unidos da América.....	17
Figura 6 – Aplicação de herbicidas com glifosato e os efeitos cardíacos.....	19
Figura 7 – Exemplo de tumor mamário após administração de Roundup.....	22
Figura 8 – Correlação entre incidência de cancro da mama e a utilização de herbicidas com glifosato nos Estados Unidos da América.....	23

Índice de tabelas

Tabela 1 - Produtos alimentares com os LMR de acordo com o regulamento europeu.....	6
Tabela 2 – Estudos realizados em células para avaliar o efeito toxicológico do glifosato....	27
Tabela 3 – Estudos realizados em modelos animais (roedores) e em vacas para avaliar o efeito do glifosato e seus herbicidas em mamíferos	28
Tabela 4 – Estudos populacionais para avaliar a associação da aplicação de herbicidas à base de glifosato e as doenças	30

Lista de Abreviaturas

AchE – Acetilcolinesterase

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AMPA – Ácido aminometilfosfónico

Ca²⁺ - Cálcio

CE – Comissão Europeia

EFSA - *European Food Safety Authority* (Autoridade de Segurança Alimentar Europeia)

EPA - *Environmental Protection Agency* (Agência de Proteção do Ambiente americana)

EPSPS - 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase

EUA – Estados Unidos da América

FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura

GGT – Gama glutamil transferase

GLDH – Glutamato desidrogenase

GOT – Transaminase de oxaloacético glutâmico

GSH - Glutathione

HBG – Herbicidas à base de glifosato

IARC - *International Agency for Research on Cancer* (Agência Internacional para Investigação em Cancro)

LMR – Limite máximo de resíduos

LOAEL - *Lowest-observed-adverse-effect level* (Nível do mínimo efeito observável)

mg/kg – Miligramas por quilograma

mM – Milimolar

Mn - Manganês

NOAEL - *No-observed-adverse-effect level* (Nível Sem Efeitos Adversos Observáveis)

PBMC - *Peripheral blood mononuclear cell* (Célula mononuclear de sangue periférico)

POEA - Polioxietileno amina

PV – Peso vivo

SOD – Superóxido dismutase

TBARS - *Thiobarbituric acid reactive substances* (substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico)

TEA – Transtorno do espectro autista

UE – União Europeia

1. Introdução

Os pesticidas têm como principal função a prevenção ou redução das perdas na produção agrícola derivadas de ervas daninhas, insetos ou outras pragas. Estes produtos providenciam um benefício económico, maximizando a quantidade de bens agrícolas, e melhora mesmo o aspeto de frutas e legumes, tornando-os mais apetecíveis para os consumidores. Adicionalmente, podem melhorar nutricionalmente o produto gerado. São, portanto, uma ferramenta eficaz no combate às várias pragas, à maximização dos proveitos agrícolas e ao melhoramento do produto final (Damalas & Eleftherohorinos, 2011).

Efetivamente, devido às vantagens destes produtos, a cada ano tem-se verificado o aumento da produção, comercialização e aplicação de herbicidas em todo mundo, sendo o glifosato, nomeadamente através do Roundup, o herbicida mais utilizado. O Brasil, por exemplo, é dos principais utilizadores do glifosato (Demichelli et al., 2020).

Outro problema que tem emergido da utilização do glifosato é o aparecimento de ervas com resistência aos efeitos herbicidas deste composto. Isto faz com que, os agricultores utilizem doses mais elevadas e apliquem os herbicidas com glifosato mais frequentemente, com potenciais efeitos secundários adicionais (Van Bruggen et al., 2018).

A Agência de Proteção do Ambiente (*Environmental Protection Agency* – EPA) classifica este composto como sendo “praticamente não-tóxico e não irritante em toxicidade aguda”, e a as próprias agências reguladoras europeias e a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO – *Food and Agriculture Organization*) e a WHO (*World Health Organization*, Organização Mundial de Saúde) têm classificado o glifosato como relativamente seguro, desde que não exceda o valor máximo de ingestão diário (FAO-WHO refere que esse valor é de 1 mg/kg de peso vivo - PV) (WHO, 2016).

Contudo, vários cientistas, médicos e toxicologistas têm manifestado preocupações sobre a segurança deste composto, defendendo que este acarreta vários efeitos nocivos na saúde humana e animal e, acarreta problemas ambientais. Estes especialistas referem que, as estimativas das agências reguladoras para quantidades diárias toleráveis de glifosato são baseadas em evidência desatualizada (Myers et al., 2016).

Adicionalmente, os estudos que investigam os efeitos da exposição crônica a baixas concentrações de glifosato, através dos alimentos, são ainda relativamente escassos e, portanto, um eventual risco deste pesticida para a saúde humana não deve ser negligenciado. São necessários estudos epidemiológicos com metodologias mais robustas para aferir, com rigor, a eventual segurança ou toxicidade associada a este composto (Agostini et al., 2020).

Apesar disso, o estudo do glifosato e dos seus principais efeitos têm sido cada vez mais investigados, como se pode ver pelo aumento gradual do número de publicações indexadas no Pubmed (**figura 1**).

Neste sentido, e tendo em conta a polémica e relativa incerteza sobre a segurança ou toxicidade do glifosato, o principal objetivo desta dissertação de mestrado é fazer uma breve revisão narrativa sobre o estado-da-arte mais recente sobre os efeitos toxicológicos deste composto no organismo.



Figura 1 – Publicações indexadas no Pubmed sobre o glifosato. Número de publicações anuais sobre o glifosato indexadas e publicadas no Pubmed. O primeiro estudo refere-se a 1974, o primeiro ano em que foi utilizado como herbicida, e vai até outubro de 2020.

2. Glifosato

O glifosato (N-(fosfonometil) glicina), cuja estrutura é mostrada na **Figura 2**, é um herbicida de largo espectro sintético e não seletivo, utilizado amplamente na agricultura para o controle de ervas e outras plantas (World Health).

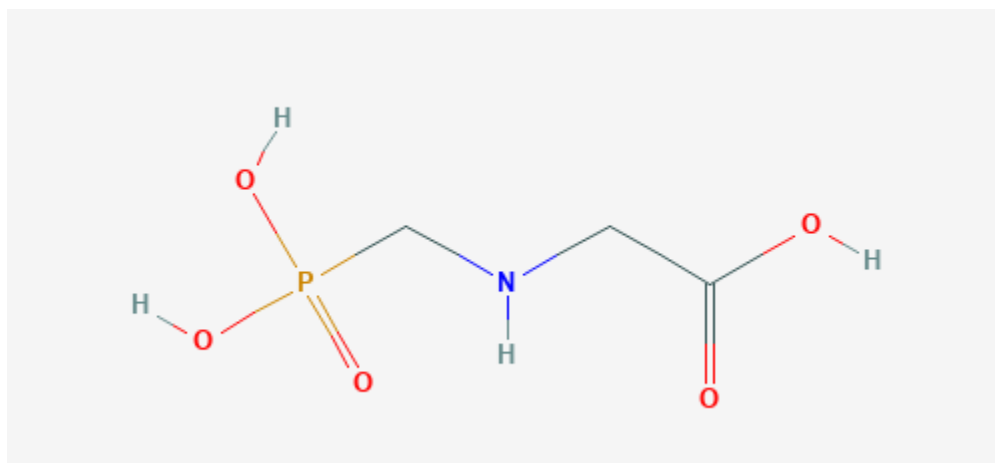


Figura 2 - Estrutura química do glifosato. Adaptado de PubChem, 2020

Quimicamente, é constituído pelo aminoácido glicina e por um grupo fosfonometil e é o princípio ativo de vários produtos fitofarmacêuticos. Entre estes produtos, destacam-se o Roundup (o mais reconhecido), Buggy 360, Touchdown premium, Tornado, Glifos Titan, Spasor K, Rumbo, Verdys ou Radikal. A sua formulação pode ser sal de amónio ou sal de isopropilamónio em concentrados ou grânulos hidrossolúveis, de várias concentrações e de vários fabricantes, denominando-se no seu conjunto como herbicidas à base de glifosato – HBG (Oliveira & Henriques, 2011).

As formulações de glifosato (geralmente com 36-48% de glifosato) têm vários adjuvantes, em particular surfactantes, como o polioxietilenoamina (POEA), presente no Roundup, para maximizar a entrada e transporte dos ingredientes ativos na planta, promovendo a sua toxicidade.

Desta forma, as aplicações de HBG têm um efeito herbicida mais potente que o glifosato sozinho. Apesar de serem declarados como diluentes inertes, por não serem eles os

responsáveis pelo efeito herbicida do produto, a verdade é que muitas vezes são tóxicos para o ambiente, animais e humanos, conforme abordado com mais detalhe nas seções posteriores desta dissertação (Agostini et al., 2020; Robin Mesnage, Defarge, De Vendômois, & Seralini, 2015; Van Bruggen et al., 2018).

2.1. Utilização como herbicida

O glifosato é utilizado como herbicida desde 1974, na agricultura e noutras atividades. É o herbicida mais utilizado mundialmente (825 quilotoneladas anuais), em cerca de 140 países (Agostini et al., 2020; Benbrook, 2016). É tóxico para plantas monocotiledóneas (ervas) e dicotiledóneas (Van Bruggen et al., 2018).

No âmbito agrícola, as suas aplicações podem ser feitas antes ou após as plantações dos produtos, nomeadamente no caso desta última, com a utilização de plantações (*e.g.* milho) geneticamente modificadas para serem resistentes ao glifosato (Van Bruggen et al., 2018).

De facto, a crescente utilização de espécies de plantas geneticamente modificadas (não permitida na União Europeia), como o milho, a soja e algodão resistentes ao glifosato e a expansão da época de aplicação deste produto tem levado ao aumento de áreas agrícolas sob o seu tratamento. Além disso, devido ao aparecimento de ervas resistentes ao glifosato, têm sido aplicadas doses com maior frequência, causando um tremendo impacto no ambiente e na saúde (Van Bruggen et al., 2018).

As aplicações não agrícolas são realizadas para controlo de ervas em infraestruturas residenciais ou urbanas (ruas e parques) e industriais, em linhas elétricas e em estradas e vias de circulação (Agostini et al., 2020).

2.2. Resíduos de glifosato

Este produto tem inúmeros benefícios, em particular na agricultura, como herbicida, ajudando a maximizar os rendimentos das produções agrícolas. No entanto, a sua utilização intensiva tem originado um crescente nível de resíduos no ambiente, nomeadamente no solo, no meio aquático (lençóis freáticos, lagos e rios), e em alimentos vegetais e animais (Van Bruggen et al., 2018). Aliás, o tempo de semivida do glifosato na água e nos solos é mais longo do que se esperava (Myers et al., 2016).

Apesar de relativamente resistente à degradação, pode ser degradado, por microrganismos, nos resíduos de plantas ou em plantas vivas, e no solo, sendo o primeiro produto de decomposição o ácido aminometilofosfónico (*aminomethyl phosphonic acid* – AMPA) (Mamy, Barriuso, & Gabrielle, 2016).

Deste modo, os resíduos, quer de glifosato, quer de AMPA, podem ser encontrados nos produtos vegetais (Van Bruggen et al., 2018). Plantas resistentes ao glifosato de última geração (*e.g.* algumas variedades de milho) usam como estratégia a inserção de um transgene que codifica a glifosato oxidase, a enzima que metaboliza rapidamente o glifosato para AMPA (**Figura 3**), fazendo com que haja quantidades mínimas de glifosato, mas mais elevadas de AMPA (menos tóxico) (Correa, Dayan, Owens, Rimando, & Duke, 2016).

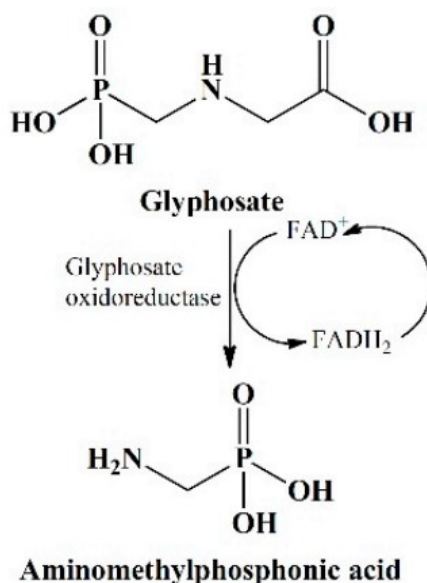


Figura 3 – Degradação do Glifosato em AMPA. Adaptado de Singh, et al., 2020.

O glifosato adsorve à argila e matéria orgânica, levando à sua acumulação (e de AMPA também) ao longo do tempo em solos mais argilosos, enquanto em solos mais arenosos é mais arrastado (Bergström, Börjesson, & Stenström, 2011). No entanto, chuvas mais intensas e fenômenos de erosão são responsáveis pelo transporte de glifosato e AMPA para as águas superficiais. Estes acabam por incorporar-se nos sedimentos do fundo dos lagos/rios, onde a sua degradação é mais lenta. Assim, o glifosato está já espalhado por uma variedade de recursos aquíferos (Maqueda, Undabeytia, Villaverde, & Morillo, 2017).

Numa compilação de estudos, Van Bruggen et al., observou que o glifosato foi detetado em vários tipos de ambientes aquáticos (lagos, rios, e até no mar), num grande número das amostras recolhidas, quer nos EUA, quer na Europa, apesar de na Europa, por não ser permitido a utilização de produtos geneticamente modificados, as concentrações de glifosato encontradas serem em menores níveis (Van Bruggen et al., 2018).

A FAO considera que o risco alimentar de glifosato e AMPA é mínimo se não se exceder o máximo de ingestão diária de 1 mg/kg de peso vivo (Bai & Ogbourne, 2016). Nos produtos agrícolas, o glifosato e o seu metabolito AMPA (também ele tóxico para vários organismos) têm sido encontrados em várias concentrações, algumas acima do permitido, variando as suas concentrações (glifosato + AMPA) entre 0,1 a 100 mg/kg em legumes e 0,1 a 25 mg/kg em cereais e oleaginosas (Alimentarius, 2013; World Health).

Várias organizações como a Organização para a Agricultura e Alimentação das Nações Unidas (FAO) e a Comissão Europeia (CE) têm estabelecido Limites Máximos de Resíduos (LMR) para o glifosato, para garantir a proteção e segurança alimentar dos consumidores contra quantidades excessivas de glifosato na alimentação, que possam comprometer a saúde (European Food Safety, 2015).

Na UE, os LMR do glifosato são regulados pelo **Reg. (EU) N. 293/2013**, conforme descrito na **tabela 1**. Vários estudos têm analisado os teores deste pesticida nos alimentos.

A EFSA não observou valores acima do LMR nos produtos de origem bovina e suína (European Food Safety, 2015), tendo o mesmo sido observado, em plantas de soja (Arregui et al., 2004), milho (Reddy, Rimando, Duke, & Nandula, 2008) e em vários tipos de cereais (Granby, Johannesen, & Vahl, 2003). Outro estudo, medindo glifosato em soja, detetou níveis superiores ao LMR nalgumas amostras (Bøhn et al., 2014), o que sublinha a

importância de se procederem a análises periódicas deste resíduo em vários tipos de alimentos pelas autoridades de segurança alimentar.

	Produtos alimentares	Glifosato (mg/kg)
Produtos de origem vegetal	Frutos	0,1 a 0,5
	Vegetais (frescos ou congelados)	0,1
	Tubérculos	
	Batatas	0,5
	Restantes	0,1
	Vegetais bulbosos	0,1
	Vegetais frutíferos (e.g. tomate)	0,1
	Vegetais do género <i>Brassica</i> (e.g. couves)	0,1
	Vegetais de folha (e.g. espinafre)	0,1
	Ervas aromáticas	0,1
	Leguminosas	0,1
	Outros vegetais	0,1
	Fungos	
	Cultivados	0,1
	Selvagens	50
	Oleaginosas e sementes	0,1 a 20
	Óleos	0,1 a 20
	Sementes	0,1
	Azeite	1
	Cereais	0,1 a 20
	Chás e infusões	2
	Café (grãos)	0,1
	Chocolate (grãos)	0,1
	Especiarias	0,1
	Açúcar (cana)	0,1
Produtos de origem animal	Carnes e miúdos	
	Suíno	0,05 a 0,5
	Bovino	0,05 a 0,5
	Ovino e Caprino	0,05
	Aves de capoeira	
	Carnes e miúdos	0,05
	Rim	0,1
	Outras carnes	0,05
	Leite	0,05
	Ovos	0,05
	Mel e produtos apícolas	0,05

Tabela 1 - Produtos alimentares com os valores de LMR, de acordo com o regulamento europeu (Reg. (EU) N. 293/2013)

Os humanos e os animais são expostos indiretamente aos resíduos de glifosato e AMPA, através da alimentação de produtos contaminados, nomeadamente, através da água e das plantas (Agostini et al., 2020), sendo depois excretados nas fezes e urina, onde podem ser quantificados (Van Bruggen et al., 2018).

Com efeito, o glifosato é detetado na urina de vários animais e em humanos. Apresenta níveis mais elevados para animais em cujo alimento foi utilizado glifosato mais frequentemente e em áreas que não usam plantações geneticamente modificadas para resistirem ao glifosato. No caso dos humanos, os casos são mais elevados em pessoas cronicamente doentes, quando comparados com a população geral, o que deixa antever certos efeitos tóxicos associados ao glifosato, que serão abordados nas seções posteriores (Krüger et al., 2014).

2.3. Enquadramento legal do glifosato

A Comissão Europeia tem enquadrada uma estratégia de utilização sustentável dos pesticidas, de forma a reduzir o impacto destes pesticidas na saúde humana e no ambiente.

Desta forma, o glifosato, como pesticida (herbicida) que é, tem a sua utilização regulamentada do ponto de vista da legislação comunitária, enquadrando este produto na legislação sobre produtos fitofarmacêuticos.

De facto, além do **Regulamento (UE) N. 293/2013**, que define os LMR de glifosato nos alimentos, importa referir ainda o **Regulamento de Execução (UE) 2017/2324**, que procede à renovação da aprovação da substância ativa glifosato, para utilização exclusiva como herbicida no mercado comunitário, em conformidade com o Regulamento (CE) nº 1107/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado comunitário. Tal advém da classificação deste composto, pelo Centro Internacional de Investigação do Cancro (IARC), como potencialmente cancerígeno para humanos.

Neste regulamento, consta ainda um anexo que reitera o grau de pureza do glifosato (pureza ≥ 950 g/kg) e que, o teor de formaldeído e de N-nitroso-glifosato devem ser menores que 1 g/kg e 1 mg/kg (impurezas), respetivamente.

Em Portugal, a **Lei n.º 26/2013** transpõe para o direito nacional a Diretiva Comunitária sobre o uso sustentável de produtos fitofarmacêuticos, regulando as atividades de distribuição, venda e aplicação de produtos fitofarmacêuticos, renovada recentemente com o **Decreto-Lei n.º 35/2017**.

A Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) é a autoridade competente, em Portugal, para autorizar a venda dos produtos fitofarmacêuticos, como o glifosato. Além disso, é também a autoridade competente responsável, a nível nacional, pela avaliação de risco da presença de resíduos de glifosato nos alimentos, seja pelo uso de fitofármacos não autorizados, seja por ser ultrapassado o LMR fixado (Cavaco & Mendes, 2016).

2.4. Mecanismo de ação do glifosato

O efeito herbicida do glifosato advém do facto deste composto competir e inibir a atividade de uma enzima essencial no ciclo de vida das plantas, a 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS). Esta enzima participa na via chiquimato (**figura 4**), uma via metabólica usada pelas plantas e algumas bactérias na síntese de folatos e aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano, tirosina), através do metabolito final desta via, o corismato, que serve de substrato aos aminoácidos referidos (Helander, Saloniemi, & Saikkonen, 2012).

O glifosato e o AMPA inibem a atividade de enzimas antioxidantes e promovem a acumulação de espécies reativas de oxigénio (ROS), causando lesão oxidativa e disfunção da planta, em conjunto com diminuição do teor de cloforila e da taxa de fotossíntese (Gomes et al., 2016).

Adicionalmente, o glifosato origina um défice de produção de certos compostos aromáticos, como a fitoalexina, que tem um importante papel na resistência da planta e como

antimicrobiano contra microrganismos presentes no solo, levando à morte das plantas por infecções nas raízes (Van Bruggen et al., 2018).

Importa ainda referir que o glifosato é degradado em AMPA e dióxido de carbono através da enzima glifosato oxidoreductase, principalmente pelo metabolismo oxidativo de certos microrganismos presentes nos solos, podendo ser também degradada via radiação ultravioleta (Agostini et al., 2020).

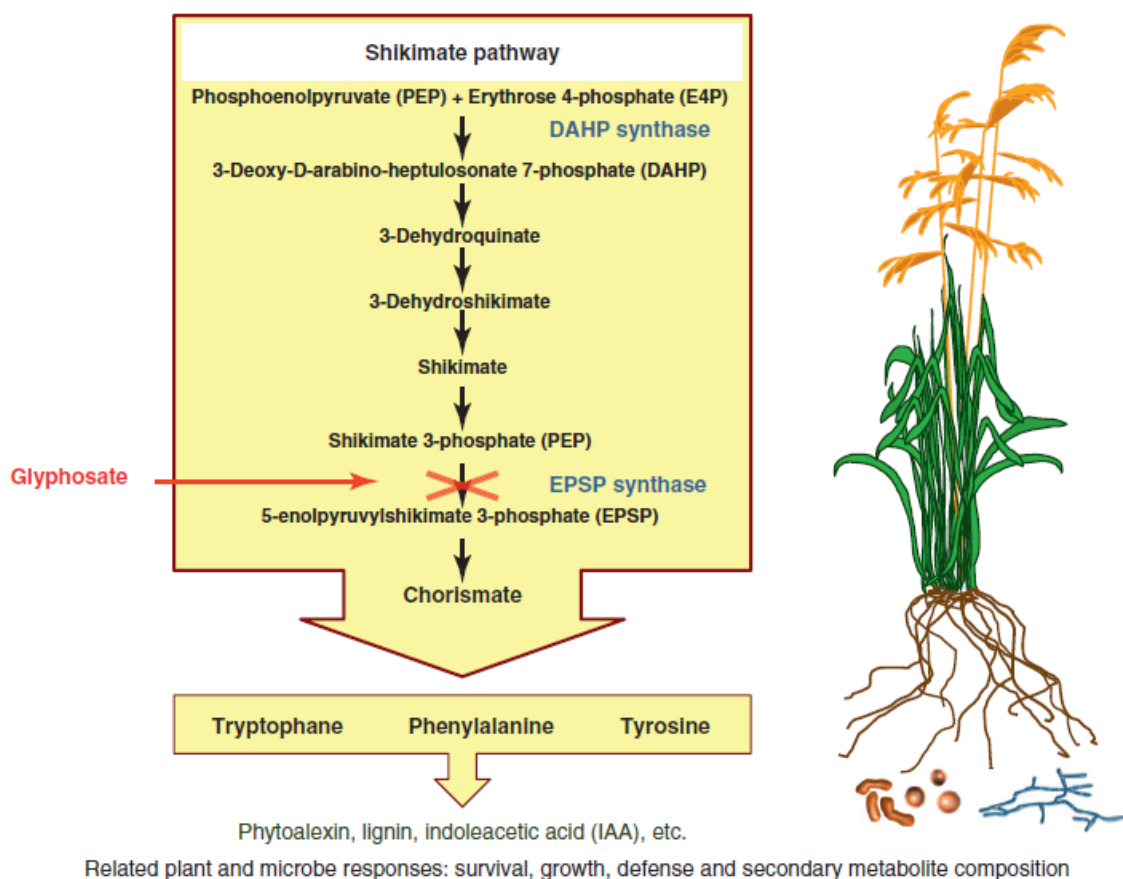


Figura 4 – Via chiquimato. Ao inativar a enzima EPSPS, vai interferir na produção de proteínas importantes que requerem certos aminoácidos (triptofano, fenilalanina, tirosina) como precursores, comprometendo a resposta da planta às defesas antimicrobianas, à sobrevivência e ao crescimento. Adaptado de Helander et al., 2012.

A via chiquimato está presente nas bactérias, fungos, algas, parasitas e plantas. Não estando presente nos mamíferos, assume-se o glifosato como sendo seguro, devido à sua excreção quase intacta pela urina. Contudo, as bactérias presentes no intestino, têm esta via,

sendo capazes de metabolizar eficazmente o glifosato. Logo, é possível detetar AMPA no sangue de humanos e animais.

2.5. Toxicocinética do glifosato

Antes de abordarmos os efeitos toxicológicos deste composto, importa referir o que se sabe da sua (fármaco)cinética ou toxicocinética.

Após a ingestão de alimentos contaminados, o glifosato pode ser absorvido pelo intestino (20-40%), indo para a circulação sistémica. O seu metabolismo é muito limitado, apenas uma pequena quantidade de AMPA é eliminado nas fezes. AMPA é produzido pela microbiota gastrointestinal e, posteriormente, é excretado na urina até às 48 horas (tempo de semivida de 6-14 horas). Não aparenta ter potencial para bioacumulação (European Food Safety, 2015).

3. Efeitos tóxicos do glifosato

Muitos dos estudos em que se analisou o teor de glifosato nos produtos alimentares não encontraram este composto acima dos valores estabelecidos de LMR (European Food Safety, 2015). Apesar dos valores abaixo do LMR em indivíduos mais suscetíveis a consumos crónicos destes alimentos, com níveis reduzidos de glifosato, ainda não são claras as consequências a nível de saúde.

De acordo com vários estudos feitos *in vitro* (em linhas celulares), em animais de laboratório e em estudos epidemiológicos, o glifosato tem efeitos tóxicos principalmente ao nível do fígado e do rim, ao nível neurológico, ao nível do sistema imunitário, ao nível do sistema reprodutivo, ao nível da carcinogénese e da teratogénese (Agostini et al., 2020).

Os efeitos tóxicos estão presentes após exposições agudas ou crónicas. No caso de exposições agudas, estas são avaliadas no contexto de exposições acidentais em humanos ou em estudos animais de exposição aguda (até 28 dias) em que se usam doses elevadas.

Exposições crónicas ocorrem em exposições ambientais continuadas, ocupacionais ou em estudos animais mais prolongados. E permitem avaliar melhor os efeitos tóxicos da exposição ambiental ao glifosato (Robin Mesnage et al., 2015).

Nunca é demais salientar que nos vários estudos que analisam HBG como o Roundup se torna, por vezes, difícil perceber se a toxicidade aparente se deve ao glifosato, ao adjuvante ou a resíduos do herbicida, ou se é mesmo um efeito sinérgico do glifosato e dos produtos da formulação (Peixoto, 2005).

3.1. Hepatotoxicidade e nefrotoxicidade

O fígado e o rim são dos principais órgãos responsáveis pelo metabolismo e eliminação de xenobióticos e poluentes ambientais, como é o caso do glifosato, sendo, por isso, particularmente vulneráveis aos seus efeitos tóxicos (Manfo et al., 2020).

Estudos realizados em animais de laboratório, nomeadamente em roedores, permitiram esclarecer mais detalhadamente os efeitos hepatotóxico e nefrotóxico do glifosato e dos HBG.

O relatório mais recente efetuado pela EFSA, como entidade reguladora, determinou que em ratos de laboratório, para estudos de longo-prazo com glifosato, o Nível Sem Efeitos Adversos Observáveis – NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) era de 100 mg/kg de PV, por dia, enquanto o Nível de Efeito Mínimo Observável – LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) foi referido como 350 mg/kg PV/dia (Robin Mesnage et al., 2015).

Estudos feitos em ratos (*Rattus norvegicus*) e murganhos (*Mus musculus*) no âmbito da dos estudos regulatórios para aprovação do glifosato pela Comissão Europeia, foram verificados alguns casos de hepatotoxicidade, que se reflete num aumento da enzima fosfatase alcalina, especialmente em doses maiores que 100 mg/kg/PV/dia. Contudo, vários trabalhos relatam efeitos tóxicos em doses inferiores (Robin Mesnage et al., 2015).

Os vários trabalhos *in vivo* e *in vitro*, permitiram determinar mecanismos potenciais de hepatotoxicidade e nefrotoxicidade associados ao glifosato e derivados.

Curiosamente, os efeitos tóxicos podem advir dos adjuvantes ou das formulações de HBG, em vez do glifosato *per se*. Com efeito, células humanas tumorais do fígado (HepG2) foram expostas a glifosato e Roundup, tendo-se observado menor viabilidade celular e mais morte celular apenas com o Roundup (Gasnier et al., 2009). O mesmo padrão (toxicidade apenas com HBG) foi observado na formação de espécies reativas de oxigénio e *stress* oxidativo (Agostini et al., 2020).

Um dos potenciais mecanismos de toxicidade está relacionado com a fosforilação oxidativa mitocondrial. Em mitocôndrias isoladas de rato expostas ao Roundup (15 mM), há uma depressão da atividade oxidativa mitocondrial, mediada por uma inibição dos complexos II e III da mitocôndria. Este efeito não acontece quando é adicionado apenas glifosato (Peixoto, 2005). Observação corroborada numa cultura de hepatoma, onde se notou, com Roundup (10 mM), uma diminuição da respiração oxidativa mitocondrial, menor tamanho da membrana interna mitocondrial (redução da atividade mitocondrial) e diminuição de atividade transcricional das células (Malatesta et al., 2008).

O glifosato pode ser também um quelante de cátions metálicos (cobre, manganês, cobalto, ferro) e cálcio, o que até pode explicar parte dos seus efeitos ao nível da atividade mitocondrial, aumentando a permeabilidade da membrana mitocondrial a prótons e cálcio e promovendo o “*uncoupling*” mitocondrial (Olorunsogo, 1990).

A indução de *stress* oxidativo, com um desequilíbrio entre fatores que propiciam um ambiente pró-oxidativo e as defesas antioxidantes, pode também causar hepatotoxicidade (Robin Mesnage et al., 2015).

Com efeito, em ratos tratados com glifosato durante 5 semanas, foi detetada uma diminuição do nível de antioxidantes (alfa-tocoferol) e da atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD). Simultaneamente houve um aumento de biomarcadores de lesão oxidativa relacionados com o aumento de espécies reativas de oxigénio, como substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico - TBARS (*Thiobarbituric acid reactive substances*). Foi também detetado um aumento dos níveis plasmáticos de gama-glutamyl transpeptidase (GGT), um biomarcador sensível da lesão hepatocelular após lesões tóxicas.

Estes resultados evidenciam o papel deletério do *stress* oxidativo associado ao glifosato. Todavia, este efeito oxidativo tóxico, induzido pelo glifosato, parece ser órgão-dependente, uma vez que o rim aparenta ser menos vulnerável que o fígado (Astiz, de Alaniz, & Marra, 2009a, 2009b). Este aumento do *stress* oxidativo pode ser originado pelo aumento mitocondrial de Ca^{2+} , uma das principais fontes de espécies reativas de oxigénio na mitocôndria (Robin Mesnage et al., 2015).

Num estudo de longo prazo (2 anos) em ratos Sprague-Dawley, com o glifosato (Roundup) a ser fornecido na água da bebida (em 3 concentrações diferentes), o fígado e rim foram os órgãos mais afetados. Em termos de lesões hepáticas foi detetada congestão hepática e necrose, com aumento da GGT hepática, o que reflete disfunção hepática. Foi também verificado um aumento da atividade de enzimas do citocromo P450 hepático. No rim, foi observado sinal de doença renal crónica, com aumento urinário de sódio e cloro e diminuição de creatinina urinária, e portanto, da sua clearance, evidenciando a referida toxicidade hepatorenal associada ao glifosato e/ou formulações associadas. Como consequência, houve um aumento da mortalidade nestes ratos, especialmente no grupo de fêmeas (Séralini et al., 2014).

Um estudo realizado em vacas leiteiras de quintas com uso frequente de glifosato verificou que todas excretavam glifosato na urina e tinham sinais de disfunção hepática (níveis elevados glutamato desidrogenase - GLDH e glutamato oxaloacetato transaminase - GOT) e renal (hiperurínemia), em que os níveis de glifosato séricos se correlacionam negativamente com a creatinina sérica e positivamente com a ureia (creatinina e ureia são parâmetros renais), e com a GLDH e GOT, revelando que o glifosato é tóxico também para animais relacionados com a agropecuária (Krüger, Schrödl, Neuhaus, & Shehata, 2013).

Relativamente aos estudos epidemiológicos existem, ainda, poucos estudos que abordem os efeitos tóxicos nestes dois órgãos. Um grupo observou uma elevada prevalência de doença renal crónica em agricultores do Sri Lanka, cujos níveis de glifosato na urina eram elevados. E, através da análise multivariada foi associado um maior risco de desenvolver nefropatia à utilização de glifosato como pesticida (Jayasumana, Gunatilake, & Siribaddana, 2015).

Outro grupo, analisou a exposição ocupacional ao glifosato em operários duma fábrica que produz este composto e detetou disfunção hepática e renal, em comparação a grupos controlo de operários não expostos ao glifosato, numa forma dose-dependente (Zhang et al., 2017).

No caso de intoxicações agudas por HBG, acidentais ou em caso de suicídio, a presença de disfunção hepática e/ou renal é também observada (Kamijo, Takai, & Sakamoto, 2016; Talbot et al., 1991), e a presença de nefrotoxicidade, manifestada pelo aumento dos níveis de creatinina, estão associados a um pior prognóstico e maior mortalidade (C.-H. Lee, Shih, Hsu, Hung, & Lin, 2008).

Pelos estudos acima mencionados e resumidos nas **tabelas 2, 3 e 4**, englobando desde trabalhos *in vitro* até estudos populacionais, fica evidente o impacto do glifosato no sistema hepatorenal.

3.2. Efeitos neurológicos

Uma série de relatórios de entidades reguladores, como a agência EPA e a EFSA, manifestam a escassez de estudos que sustentem um efeito neurotóxico do glifosato, advogando a sua baixa toxicidade no sistema nervoso (Robin Mesnage et al., 2015). Estudos recentes, porém, põem em causa essa premissa.

O mecanismo de ação do glifosato, conforme abordado na seção 2.4, envolve a disrupção da via chiquimato, que produz aminoácidos aromáticos essenciais com um importante papel precursor de neurotransmissores (dopamina e serotonina). Contudo, como esta via não está presente nos mamíferos, o seu efeito a este nível tende a ser subvalorizado.

Com efeito, esta subvalorização tende a esquecer o impacto do glifosato na microbiota intestinal, onde a via chiquimato está presente. De facto, a microbiota tem, reconhecidamente, um papel cada vez mais importante na fisiologia dos mamíferos, onde se incluem os humanos, e a disrupção da via induzida pelo glifosato pode interferir em vários processos patológicos, nomeadamente neurológicos (Herrmann & Weaver, 1999; Samsel & Seneff, 2013; Sealey et al., 2016).

Outra forma potencial do glifosato interferir nos transtornos mentais é pela depleção de manganês (Mn). A quelação de Mn pelo glifosato está parcialmente envolvida na interrupção da via do chiquimato, já que o Mn é um catalisador da enzima EPSPS e o glifosato inibe EPSPS (Samsel & Seneff, 2013).

A sobreexpressão de glutamato no cérebro em associação com autismo ou com a doença de Alzheimer pode estar relacionada com a deficiência de Mn (Samsel & Seneff, 2015a). Além disso, o Mn é importante na superóxido dismutase de manganês (Mn-SOD), uma enzima antioxidante relevante, conhecida por proteger as mitocôndrias do *stress* oxidativo. O aumento do *stress* oxidativo e da inflamação no cérebro, desencadeados por disfunção mitocondrial e eliminação inadequada de superóxido, devido à inativação de Mn-SOD pelo glifosato, podem ser fatores cruciais em vários transtornos mentais (Samsel & Seneff, 2015a), como o autismo (Rose et al., 2012) e a doença de Alzheimer (Yao et al., 2009).

De facto, o *stress* oxidativo aparenta ter também um papel relevante no efeito neurológico do glifosato. Com efeito, trabalhos já referidos na subsecção anterior pelo grupo de Astiz (2009) referem que a administração de glifosato durante 5 semanas em ratos Wistar aumenta as lesões pró-oxidativas, como peroxidação de lípidos, carbonilação de proteínas e formação de espécies reativas de nitrogénio e diminuição dos níveis de antioxidantes (alfa-tocoferol e SOD) no cérebro, em particular na *substantia nigra*, estrutura importante na patogénese da doença de Parkinson. Existe, ainda, ativação de vias apoptóticas (Astiz et al., 2009a, 2009b).

Os transtornos do espectro autista (TEA) são uma das neuropatias mais comumente associadas à presença do glifosato. Os TEA são um grupo de transtornos de neurodesenvolvimento, caracterizadas por défices na comunicação e interação social e padrões específicos e repetitivos de comportamentos, com uma prevalência em crianças de 1-2%, em crescimento (American Psychiatric, 2013). O glifosato pode ter uma contribuição chave para o desenvolvimento de TEA (**figura 5**), nomeadamente desencadeando o fenómeno de disbiose intestinal com crescimento excessivo de certas bactérias patogénicas (como *Bacteroides fragilis* e *Clostridium difficile*, este último produzindo p-cresol, um composto fenólico que funciona como biomarcador de autismo). Ao perturbar a síntese de sulfato e ao interferir na síntese de serotonina, com consequente diminuição de fornecimento ao cérebro. Todas estas características estão relacionadas com o autismo (Samsel & Seneff, 2015a; Sealey et al., 2016).

A literatura refere também a ligação da glicina com o glifosato e os seus efeitos neurológicos. O glifosato e o seu metabolito AMPA podem causar inibição da síntese de glicina, inibindo a proliferação celular de várias células (Li et al., 2013). Reconhecendo que, a glicina e outros neurotransmissores como o glutamato podem atuar como neurotransmissores e desempenhando importantes funções no cérebro, o glifosato pode ter um impacto importante nesta forma (Robin Mesnage et al., 2015), potencialmente atuando também como neurotransmissor.

Um grupo administrou glifosato via exposição maternal (durante a gravidez e a lactação) e verificou uma maior libertação de glutamato na fenda sináptica e menor *uptake* de glutamato na célula da glia, com consequente excitotoxicidade glutamatérgica e

neurotoxicidade neuronal associado com morte celular no hipocampo dos ratos imaturos. Estes efeitos estão, também, associados a um aumento do influxo de Ca^{2+} e *stress* oxidativo, sugerindo que um dos efeitos neurotóxicos do glifosato associado ao glutamato passa pelo *stress* oxidativo (Cattani et al., 2014). A morte celular neuronal pode ser induzida, ainda, por mecanismos apoptóticos e autofágicos (Gui, Fan, Wang, & Wang, 2012).

Adicionalmente, sabe-se que o glifosato pode levar à inibição da acetilcolinesterase (AChE), originando aumentos de concentrações de acetilcolina sináptica e interferindo assim no sistema colinérgico com prolongada excitação pós-sináptica.

De facto, após se expor fêmeas de ratos Wistar ao glifosato na bebida (na gravidez e aleitamento), verificou-se que, a descendência tinha diminuição da expressão de AChE no córtex pré-frontal, *striatum* e hipocampo. Este efeito, juntamente com o *stress* oxidativo, causou perda na memória de reconhecimento (Gallegos et al., 2018) e pode estar na génese de alterações na locomoção e ansiedade observadas em ratinhos expostos ao glifosato por via intranasal (Baier, Gallegos, Raisman-Vozari, & Minetti, 2017).

Outros neurotransmissores relacionados com o sistema serotoninérgico e adrenérgico mostraram também alterações após exposição ao glifosato, no córtex pré-frontal, *striatum* e hipocampo de ratos (Martínez et al., 2018), sugerindo que os efeitos neurotóxicos do glifosato poderão estar relacionados, pelo menos em parte, pela desregulação de vários neurotransmissores.

Acerca de estudos humanos, estes são mais escassos. Um estudo epidemiológico realizado em crianças filhos de aplicadores de vários pesticidas, onde se inclui HBG, mostrou que o transtorno do défice de atenção com hiperatividade estava sobre-representado em filhos de aplicadores de HBG (Garry et al., 2002).

Von Ehrenstein et al. (2019), através dum estudo populacional realizado a californianos com TEA, verificou que havia uma associação positiva entre a exposição pré-natal a HBG e TEA, em particular em casos de deficiência intelectual (von Ehrenstein et al., 2019). Swanson et al. indicou uma correlação forte entre o início da aplicação de glifosato e o aumento das taxas de ASD (Swanson, Leu, Abrahamson, & Wallet, 2014), e apesar de correlação nem sempre significar causalidade, não deixa de ser uma hipótese robusta (**figura 5**).

Outro estudo populacional realizado por um grupo americano observou que os moradores de áreas agrícolas tratadas com HBG tinham maior risco de sofrer de mortalidade precoce associada à doença de Parkinson, sugerindo um papel causal da aplicação de HBG no desenvolvimento desta doença (Caballero et al., 2018). Esta hipótese foi rejeitada por outro grupo, que numa coorte de aplicadores de pesticidas e cônjuges, não constatou nenhuma associação entre a doença de Parkinson e o glifosato (Kamel et al., 2007).

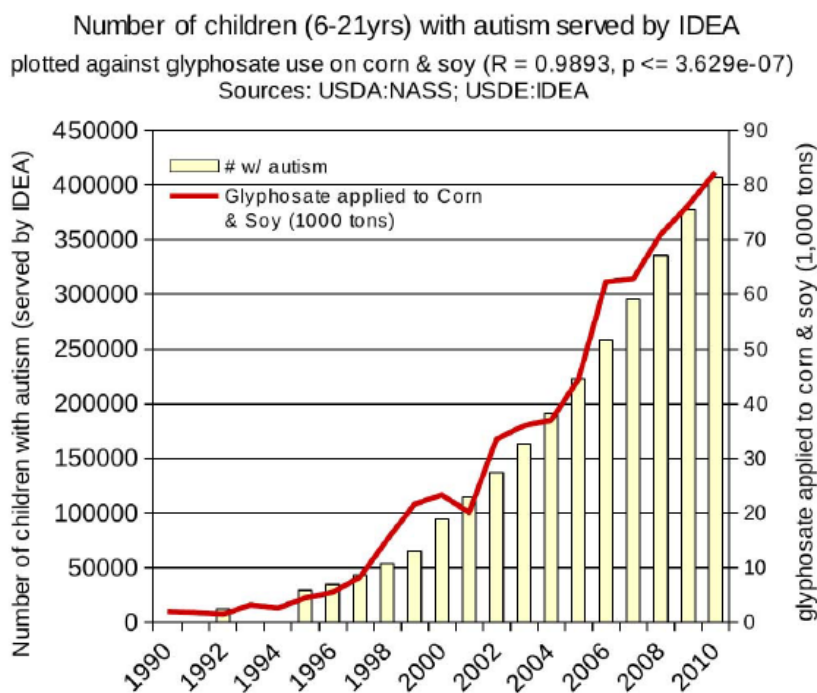


Figura 5
Correlação entre crianças com autismo e a utilização de herbicidas com glifosato nos Estados Unidos da América. Foram analisadas crianças dos 6 aos 21 anos, dos EUA e feita a correlação de Pearson entre a taxa de autismo e a aplicação de herbicidas com glifosato. Adaptado de Swanson et al., 2014.

3.3. Efeitos cardiovasculares

Os efeitos tóxicos do glifosato no sistema cardiovascular têm vindo a ser cada vez mais investigados (Gress, Lemoine, Séralini, & Puddu, 2015), apesar de não haver tantos estudos como noutros efeitos referidos nas várias secções deste capítulo 3 da monografia.

Estudos *in vitro* realizados na artéria aorta e no coração de rato mostraram um efeito inotrópico negativo (diminuição da força de contração) do glifosato (Chan et al., 2007).

Adicionalmente, resultados *in vivo* mostram que o glifosato causa disrupção de vias metabólicas (Daruich, Zirulnik, & Gimenez, 2001), *stress* oxidativo e lesões (apoptose e áreas hemorrágicas) no coração de ratos Wistar (Turkmen, Birdane, Demirel, Kabu, & Ince, 2019).

Acerca dos dados em humanos, a maioria provém de resultados retirados de intoxicações agudas (acidentais ou em casos de suicídio). Numa análise efetuada a indivíduos que tiveram intoxicações agudas a HBG, a arritmia cardíaca e a taquicardia foram detetadas (Zouaoui, Dulaurent, Gaulier, Moesch, & Lachâtre, 2013), tendo a taquicardia registada um valor preditivo de maior mortalidade (C.-H. Lee et al., 2008). A hipotensão não responsiva a fluídos intravenosos ou fármacos pode ocorrer também (Talbot et al., 1991).

Electrocardiográficos anormais, com bloqueios à condução elétrica do coração, podem também ser encontrados. Os casos de mortes relacionadas ao envenenamento com HBG, podem ter causas diretas cardíacas como, choque refratário e taquicardia ventricular (Kim et al., 2014).

Em relação a exposições ambientais, mais crónicas, os dados são escassos. Dois estudos epidemiológicos não encontraram associações entre a aplicação de pesticidas e o enfarte do miocárdio, nem em homens, nem em mulheres (Dayton et al., 2010; Mills, Blair, Freeman, Sandler, & Hoppin, 2009).

Reconhecendo que a maioria dos estudos humanos se refere a estudos toxicológicos agudos, importa conhecer melhor o impacto da exposição ocupacional e ambiental ao glifosato no sistema cardiovascular, nomeadamente a sua relação com a pressão arterial.

Todavia, este composto parece ter, realmente, um efeito no ritmo e na condução da atividade elétrica do coração.

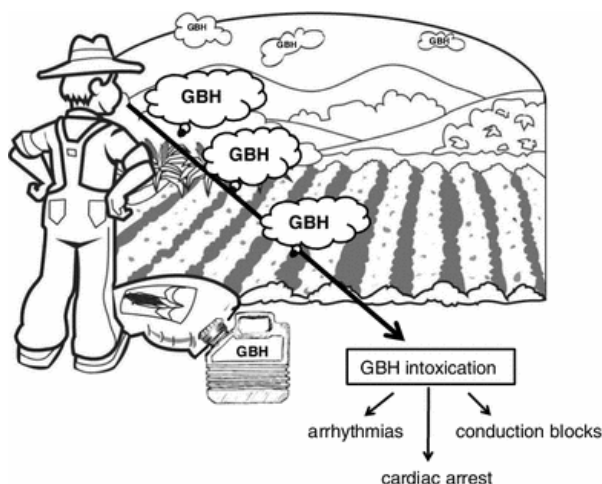


Figura 6 – Aplicação glifosato e os efeitos sazonal de HBG pode

agricultor e sua família em risco, uma vez que se usam, frequentemente, elevadas concentrações. A intoxicação por HBG tem efeitos a uma série de níveis, nomeadamente cardíacos, com a presença de arritmias, paragem cardíaca e bloqueios na condição elétrica. Adaptado de Gress et al., 2015.

de herbicidas com cardíacos. A aplicação por em causa a saúde do

3.4. Efeitos a nível do cancro

O eventual efeito mutagénico e carcinogénico do glifosato é, porventura, o mais polémico. Com efeito, o glifosato foi classificado recentemente, pela Agência Internacional para Investigação em Cancro (*International Agency for Research on Cancer – IARC*) como pertencendo ao grupo dos compostos classificados como “provavelmente carcinogénicos para humanos” (grupo 2A), baseando-se na evidência limitada em estudos humanos, apesar da existência de evidência suficiente em animais de laboratório (Fritschi et al., 2015).

Não obstante, painéis de especialistas não apoiaram a classificação da IARC, assegurando que, não representava risco carcinogénico para os humanos e que, os resultados obtidos em estudos de toxicologia não apresentavam risco genotóxico. Atestando também que, os estudos em animais careciam de associação e de consistência entre exposição ao glifosato e o aparecimento de neoplasias e que, especialmente, os dados epidemiológicos não suportavam uma relação causal entre o referido produto e o aparecimento de cancro (Williams et al., 2016).

Tais afirmações foram corroboradas pela EFSA (European Food Safety, 2015), Agência de Químicos Europeia (ECHA, 2017) e pela WHO/FAO (FAO, 2016) como sendo improvável que o glifosato causasse cancro, uma vez que não havia dados que o sustentassem. Tendo a IARC mantido, em 2018, a mesma classificação e havendo outros

autores a referirem a falta de evidência na base de classificação, o panorama acerca do potencial carcinogénico é de incerteza, requerendo evidência científica mais robusta (Agostini et al., 2020).

Todavia, alguns estudos sugerem um efeito no desenvolvimento de cancros associado ao glifosato ou HBG. A genotoxicidade, ou seja, a capacidade de causar danos ao nível do ácido desoxirribonucleico (ADN), está muito associada à carcinogénese.

Estudos realizados em linfócitos mostraram que o glifosato potencia efeitos mutagénicos e genotóxicos, nomeadamente levando a aumento de translocação de cromossomas, mas só em elevadas concentrações (Vigfusson & Vyse, 1980), aumento da frequência de aberrações cromossómicas e de micronúcleos (Santovito, Ruberto, Gendusa, & Cervella, 2018) e a lesões no ADN (Alvarez-Moya et al., 2014). Estes efeitos, porém, não foram observados noutros estudos (Mañas et al., 2009; Mladinic, Berend, et al., 2009; Mladinic, Perkovic, & Zeljezic, 2009). Também em células mononucleares do sangue periférico (PBMC - *Peripheral Blood Mononuclear Cell*) foram observadas lesões no ADN, um decréscimo dos níveis de metilação globais e um aumento da metilação do p53, sendo este um padrão epigenético muito frequente em cancros (Kwiatkowska et al., 2017).

Vários estudos foram também realizados em linhas celulares tumorais com resultados semelhantes. Em células MCF-7 (tumor mamário) tratadas com glifosato manifestou-se um efeito estrogénico, com ativação de recetores de estrogénio alfa (RE α) e aumento da proliferação celular característica de indução hormonal (Robin Mesnage et al., 2017).

Já em células tumorais hepáticas (HepG2) esteve também presente um efeito genotóxico, visível no aumento de lesões do ADN e no aumento de micronúcleos (Kašuba et al., 2017; Mañas et al., 2009).

Paradoxalmente, em células tumorais prostáticas e ováricas, quer o glifosato, quer o seu metabolito AMPA, mostraram um efeito anti-proliferativo nas células tumorais (Li et al., 2013).

Um grupo analisou 14 estudos carcinogénicos em roedores (rato e murganho), não tendo constatado evidência suficiente acerca do efeito carcinogénico do glifosato (Greim, Saltmirs, Mostert, & Strupp, 2015), apesar de alguns dos autores trabalharem na Monsanto, a empresa que fabrica o Roundup, e portanto, poder haver potenciais interesses.

Ainda assim, alguns trabalhos parecem fazer crer que essa conclusão é precipitada, uma vez que parece haver, na verdade, alguma relação entre o glifosato e a carcinogenicidade.

De facto, resultados *in vivo*, em murganhos tratados com glifosato, mostraram o efeito genotóxico, com aberrações cromossómicas e lesão no ADN (Prasad, Srivastava, Singh, & Shukla, 2009).

Outro estudo administrou Roundup na água da bebida, durante 2 anos, a ratos Sprague Dawley, e observou uma maior incidência de tumores (**figura 7**), especialmente de tumores mamários em fêmeas (Séralini et al., 2014). Já outros trabalhos apresentam resultados opostos no tocante à genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade (Robin Mesnage et al., 2015).

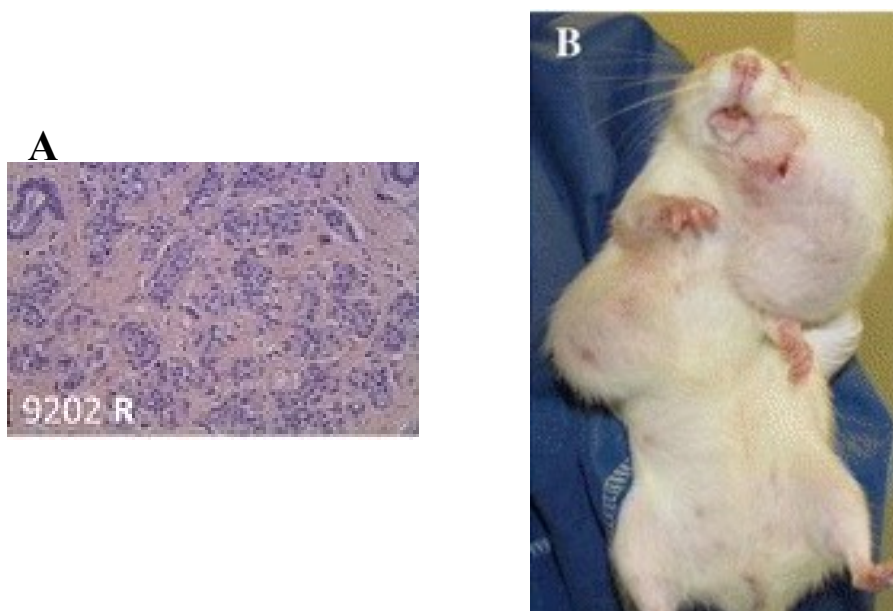


Figura 7 – Exemplo de tumor mamário após administração de Roundup. A) Corte histopatológico do tumor mamário, visível macroscopicamente na zona torácica do rato, na zona das glândulas mamárias (B). Adaptado de (Séralini et al., 2014).

Importa referir que, o efeito carcinogénico dos HBG pode advir dos surfactantes usados (POEA) e não do glifosato *per se*, uma vez que podem estar contaminados, por exemplo, com 1,4-dioxane, um composto carcinogénico (Kano et al., 2009; Robin Mesnage et al., 2015).

Acerca dos estudos em humanos, evidência epidemiológica tem mostrado correlações entre a utilização de HBG em várias plantações e a incidência de vários tipos de tumores mamários (**figura 8**), pancreático, renal, hepático e leucemias (Samsel & Seneff, 2015b). Este potencial efeito no desenvolvimento de cancros vem, no entanto, sendo contestado por vários cientistas (Kier & Kirkland, 2013), como por exemplo no cancro da mama, em que um estudo não encontrou nenhuma relação com HBG (Engel et al., 2005).

Foram encontradas associações positivas entre a aplicação de HBE e a incidência de mielomas múltiplos (De Roos et al., 2005), linfoma não-Hodgkin (McDuffie et al., 2001; Schinasi & Leon, 2014) e leucemias (Andreotti et al., 2018; Nordström, Hardell, Magnuson, Hagberg, & Rask-Andersen, 1998). Porém, uma revisão sistemática com meta-análise não encontrou qualquer relação causal forte entre HBG e cancros linfo-hematopoiéticos, como os anteriormente referidos, apesar da existência de um risco meta-relativo marginal para os mielomas múltiplos e linfomas não-Hodgkin. Os autores referem a falta de consistência e algumas falhas na metodologia dos vários estudos analisados (Chang & Delzell, 2016).

Outras associações entre a exposição a vários pesticidas e cancro colorectal, do cólon e do reto foram também observadas, mas não para o glifosato (W. J. Lee et al., 2007).

Contudo, muitos outros autores não encontram associações entre a incidência de cancro e a exposição ao glifosato (Mink, Mandel, Scurman, & Lundin, 2012), sublinhando a extrema necessidade de se proceder a estudos epidemiológicos mais robustos para se aferir o potencial carcinogénico do glifosato (Agostini et al., 2020).

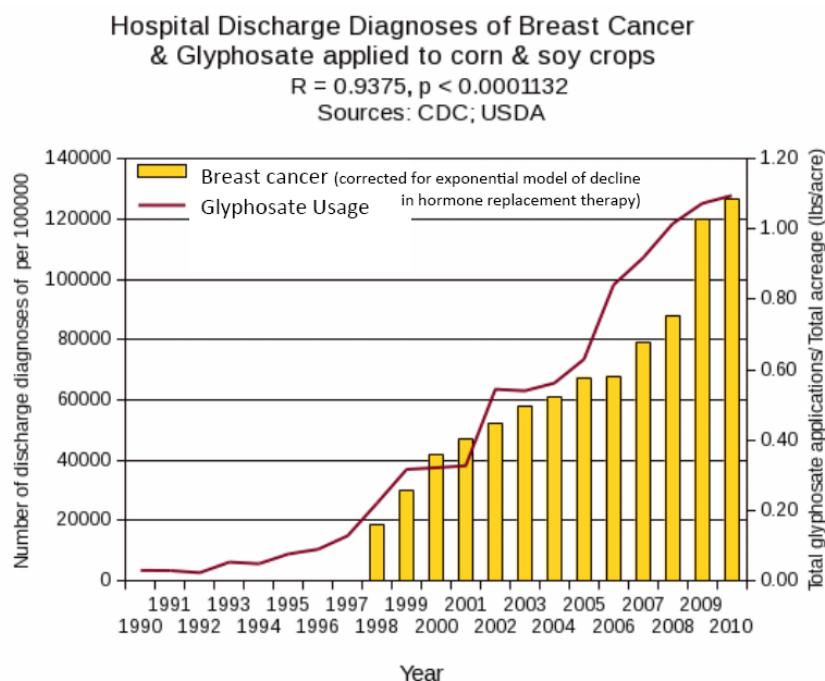


Figura 8 – Correlação entre incidência de cancro da mama e a utilização de herbicidas com glifosato nos Estados Unidos da América. A incidência de cancro da mama está normalizada para 100.000 habitantes. A linha vermelha estima a aplicação de HBG em plantações dos EUA. De referir que correlação não significa causalidade. Adaptado de Samsel & Seneff, 2015b.

3.5. Efeitos ao nível do sistema reprodutor e teratogénicos

É sabido dos efeitos nefastos de vários pesticidas na saúde reprodutiva, nomeadamente produtos com glifosato. Vários estudos *in vivo* promovidos pela indústria referiram alterações associadas a toxicidade a nível do sistema reprodutor, como alteração no ciclo reprodutivo e na qualidade do esperma (mudanças na morfologia e menor viabilidade), bem como no tamanho, viabilidade e crescimento da ninhada (Robin Mesnage et al., 2015).

Um estudo realizado em ratos Wistar pré-pubertais mostrou que, a administração de glifosato retardou a puberdade e diminuiu a produção de testosterona, funcionando como um disruptor endócrino (R. M. Romano, Romano, Bernardi, Furtado, & Oliveira, 2010). O mesmo grupo percebeu que, a administração maternal de glifosato, em ratos, provocava na

descendência masculina, distúrbios no processo de masculinização, bem como alterações comportamentais e reprodutivas (M. A. Romano et al., 2012). A exposição ao glifosato, via materna, origina menor produção de esperma e um número elevado de espermatozoides anormais e inviáveis, com menor produção de testosterona na geração masculina, e um atraso na abertura do canal vaginal na geração feminina (Dallegrave et al., 2007).

O efeito tóxico do glifosato ao nível testicular pode estar associado ao aumento do *stress* oxidativo (Astiz, de Alaniz, & Marra, 2009c). Já a administração crónica de glifosato em murganhos fêmeas (20 semanas), não alterou o ciclo reprodutivo, nem os níveis de 17 β -estradiol ou progesterona. No entanto, houve alterações no proteoma ovário, em proteínas relacionadas com vias metabólicas e vias relacionadas com sistemas antioxidantes (GSH), o que pode promover, em última análise, alterações na função ovárica (Ganesan & Keating, 2020).

Poucos estudos epidemiológicos abordaram este efeito particular. Todavia, em famílias de agricultores canadianos que utilizavam pesticidas nas suas quintas, o glifosato foi associado a uma redução de fertilidade (Curtis, Savitz, Weinberg, & Arbuckle, 1999). Outro estudo constatou também que mulheres de zonas com maior aplicação de HBG levavam mais tempo para engravidar (Sanin, Carrasquilla, Solomon, Cole, & Marshall, 2009). Por último, importa salientar que o efeito reprodutivo do glifosato pode-se estender ao longo de várias gerações (Robin Mesnage et al., 2015).

Sobre efeitos teratogénicos, a exposição ao glifosato durante a gravidez aumenta os riscos de exposição fetal (Agostini et al., 2020), que pode levar a uma série de problemas congénitos, como defeitos no tubo neural, em particular anencefalia (Rull, Ritz, & Shaw, 2006). Esta toxicidade fetal pode também causar abortos espontâneos tardios (Arbuckle, Lin, & Mery, 2001) e nascimentos precoces (Savitz, Arbuckle, Kaczor, & Curtis, 1997).

O mesmo efeito foi observado *in vivo*. Ratos Wistar (fêmeas) foram sujeitos a administração de glifosato durante a gravidez, aumentando a mortalidade da descendência e causando alterações congénitas no esqueleto fetal (Dallegrave et al., 2003).

3.6. Outros efeitos toxicológicos

Em relação a outros efeitos tóxicos associados a este composto, os poucos estudos existentes a referirem alguma relação, reportam a possibilidade do glifosato poder provocar hipotireoidismo, alterações oculares (degeneração retina), problemas dermatológicos ou artrite reumatoide (Agostini et al., 2020).

Nos casos de exposição aguda accidental ou nos casos de suicídios, maioritariamente por via oral, um dos sinais mais comuns é a lesão gastrointestinal, nas suas variadas formas. Tais como, a ulceração orofaríngea, náuseas, vômitos e hemorragia do trato gastrointestinal. Os problemas respiratórios e a dispneia, que em alguns casos requiere a ventilação assistida e, a acidose metabólica com hipercaliémia, são também outros efeitos que podem surgir em alguns indivíduos. Algumas destas pessoas chegam a morrer (Kim et al., 2014; C.-H. Lee et al., 2008; Talbot et al., 1991; Zouaoui et al., 2013).

Outro dos efeitos nefastos da utilização do glifosato, está relacionado com o impacto sobre microrganismos, como as bactérias. Por um lado, sabe-se que quando se ingere comida ou água contaminada com glifosato, este vai afetar negativamente a microbiota intestinal normal, promovendo o aparecimento de bactérias patogénicas, como o botulismo em vacas.

Adicionalmente, algumas bactérias desenvolvem mecanismos de resistência ao glifosato e muitos destes mecanismos são semelhantes aos mecanismos de resistência aos antibióticos. Dessa forma, a utilização de glifosato pode promover, indiretamente, uma maior resistência aos antibióticos utilizados atualmente, um dos grandes problemas médicos do século XXI (Van Bruggen et al., 2018).

Foram elaboradas tabelas de resumo, com as principais observações verificadas pelos autores dos estudos que analisam os efeitos tóxicos do glifosato e herbicidas associados em linhas celulares (**Tabela 2**), em modelos animais (**Tabela 3**) e em estudos humanos (**Tabela 4**).

Tabela 2 – Estudos realizados em células para avaliar o efeito toxicológico do glifosato

Tipo de célula	Produto	Dose	Tempo de exposição	Efeito tóxico estudado	Efeitos principais	Referência
Cultura tecidual de hepatoma	Roundup	10 mM	4, 12, 24 e 48 horas	Hepático	↑ tamanho lisossomas e ↑ do número de ribossomas; ↓ tamanho da membrana interna da mitocôndria (↓ atividade respiratória), após 4 horas	Malatesta et al., 2008
Mitocôndrias hepáticas isoladas	Glifosato	0,6; 1,25; 2,5; 5 mM	1 a 6 minutos	Hepático	Efluxo de prótons e Ca^{2+} (permeabilidade membrana mitocondrial <i>uncoupling</i>)	Olorunsogo, 1990
Mitocôndrias de rato Wistar	Roundup e glifosato	0,5; 1; 2; 5; 10 e 15 mM	5 minutos	Hepático	↑ respiração mitocondrial e ↑ fosforilação oxidativa apenas com Roundup (efeito dose-dependente)	Peixoto et al., 2015
Fatias de hipocampo de ratos Wistar (<i>ex vivo</i>)	Roundup	0,00005 to 0,1%	30 minutos	Neurológico	↑ Ca^{2+} influxo via recetor NDMA, com neurotoxicidade e morte neuronal; associação com cinases (CamkII e ERK) ↑ libertação de glutamato ↓ uptake pela glia	Cattani et al. 2014
Linha celular PC12 (com diferenciação neuronal)	Glifosato	5-40 mM	12-72 horas	Neurológico	↓ viabilidade celular; ↑ apoptose; ↑ autofagia, dose- e tempo-dependente	Gui et al., 2012
Linfócitos humanos	Glifosato	0,0125; 0,025; 0,05; 0,1 e 0,5 mM	24 e 48 horas	Cancro	Aberrações cromossômicas, ↑ micronúcleos; sem efeito proliferativo (mitótico)	Santovito et al., 2018
Linfócitos humanos	Glifosato	0,25- 25M	72 horas	Cancro	Mutagenicidade (translocação cromossomas)	Vigfusson e Vyse, 1980
Linfócitos humanos	Glifosato	0,7; 7; 70 e 700 μ M	20 horas	Cancro	Genotoxicidade (lesão ADN)	Alvarez-Moya et al., 2014
Células mononucleares do sangue periférico humanas	Glifosato	0,1; 0,25; 0,5; 5; 7,5 e 10 mM	24 horas	Cancro	Genotoxicidade dose-dependente; ↓ metilação global ↑ metilação do promotor do p53	Kwiatkowska et al., 2017
MCF-7 (linhas celulares de tumor mamário humano)	Glifosato e Roundup	$\geq 10,000 \mu$ g/L ou 59 μ M	24 horas	Cancro	Efeito estrogénico; ativação dos RE α ; ↑ genes proliferação celular (efeito proliferativo) em efeito exclusivo de glifosato	Mesnage et al., 2017
HepG2 (linhas celulares tumor hepático humano)	Glifosato	3; 4,5; 6; 7,5; 9; 12 e 15 mM.	48 horas	Cancro	Genotoxicidade	Mañas et al., 2009

Continuação da tabela 2

HepG2	Glifosato	0,5 µg/mL, 2,91 µg/mL e 3,5 µg/mL	4 e 24 horas	Cancro	Genotoxicidade; ↑ número micronúcleos e nuclear buds	Kašuba et al., 2017
HepG2	Glifosato e Roundup	1 mg/ml glifosato; 7,2; 360; 400 e 450g/L de glifosato no Roundup	24 horas	Cancro	citotoxicidade e ↓ viabilidade celular e ↑ mortalidade celular; disrupção endócrina; lesões ADN (apenas no Roundup, não no glifosato <i>per se</i>)	Gasnier et al., 2009
Linhas celulares humanas de tumores prostáticas, ováricas, cervicais e pulmonares Artérias e coração de ratos Sprague Dawley (<i>ex vivo</i>)	Glifosato e AMPA	15; 25 ou 50 mM	72 horas	Cancro	Efeito anti-proliferativo; ↑ apoptose (ativação caspase 3) Anticancerígeno	Li et al., 2013
	Glifosato	1 mM	20 minutos	Cardio- vascular	Efeito inotrópico negativo	Chan et al., 2007

↑↓ significa aumento ou diminuição, respetivamente. ADN: ácido desoxirribonucleico; Ca²⁺: cálcio; CamKI: Ca²⁺/Calmodulina Proteína cinase II; ERK: *Extracellular signal-regulated kinase* (cinase extracelular regulada por sinal); M: molar; mM: milimolar; µg/ml: micrograma por mililitro; p53: proteína tumoral 53; RE: recetor de estrogénio.

Tabela 3 – Estudos realizados em modelos animais (roedores) e em vacas para avaliar o efeito do glifosato e seus herbicidas em mamíferos

Espécie e estirpe	Sexo	Produto	Dose e via	Tempo de exposição	Efeito estudado	Efeitos principais	Referência
Ratos Wistar	Machos	Glifosato	10 mg/kg PV, IP	3 vezes por semana, 5 semanas	Hepático e renal	↑ TBARS no fígado e rim (biomarcador lesão oxidativa lípidos); ↓ antioxidantes hepático (alfa-tocoferol e SOD); GSH hepático e renal =, mas ↑ no plasma (com ↑ do GSH oxidado plasmático); = defesas antioxidantes no rim	Astiz et al., 2009a
Ratos Sprague-Dawley	Machos e fêmeas	Roundup	0,1 ppb; 0,09% e 0,5% na água da bebida	2 anos	Hepático	Fígado: congestão e necrose hepática; Rim: doença renal crônica (↑ excreção urinária Na, C e ureia e ↓ creatinina urina)	Séralini et al., 2014
Vacas	Fêmeas	HBG	Alimentação com origem em plantas tratadas com HBG	4-7 anos	Hepático e renal	Excreção de glifosato urina; Hepatotoxicidade (↑GLDH, GOT e colesterol); nefrotoxicidade: ↓ureia Correlação +: glifosato com GLDH, GOT e ureia; correlação -: glifosato e creatinina	Kruger et al. 2013
Ratos Wistar	Machos	Roundup	1% na água da bebida	Exposição materna (gravidez e lactação)	Neurológico	Excitotoxicidade glutamatérgica; ↑ Ca ²⁺ influxo; <i>stress</i> oxidativo hipocampo (↑ TBARS e ↓ GSH)	Cattani et al. 2014
Ratos Wistar	Machos	Glifosato	10 mg/kg PV, IP	3 vezes por semana, 5 semanas	Neurológico	↑ peroxidação de lípidos; ↑ espécies reativas nitrogênio (nitrito); ↑ carbonilação de proteínas ↓ antioxidantes (alfa-tocoferol e SOD)	Astiz et al., 2009a
Ratos Wistar	Machos	Glifosato	10 mg/kg PV, IP	3 vezes por semana, 5 semanas	Hepático, renal e neurológico	Perda potencial transmembranário mitocondrial; ↑ peroxidação de lípidos ativação via apoptótica (calpaína) na <i>substantia nigra</i>	Astiz et al., 2009b
Ratos Wistar	Machos e fêmeas	Glifosato	0,2 e 0,4% na água da bebida	Exposição crônica via materna (gravidez e lactação)	Neurológico	<i>Stress</i> oxidativo e ↓ AchE no córtex pré-frontal, <i>striatum</i> , hipocampo; Perda na memória de reconhecimento de 24h	Gallegos et al., 2008
Murganhos CF-1	Machos	Glifoglex (35.6% glifosato)	~1 mg glifosato/narina/dia	3 dias/semana, 4 semanas	Neurológico	Alterações na atividade locomotora (↓ atividade ambulatoria); ↑ ansiedade; ↓ memória	Baier et al., 2017

Continuação da tabela 3

Ratos Wistar	Machos	Glifosato	35; 75; 150; 800 mg/kg/dia, PO	6 dias	Neurológico	↓ serotonina e dopamina no <i>striatum</i> , hipocampo, hipotálamo e córtex pré-frontal, com ↑ conversão de serotonina no <i>striatum</i> e hipotálamo e conversão dopamina no CPF e hipocampo; ↓ conversão NE no córtex e hipotálamo e < NE no <i>striatum</i> e hipotálamo	Martinez et al., 2018
Ratos Sprague-Dawley	Machos e fêmeas	Roundup	0,1 ppb; 0,09% e 0,5% na água da bebida	2 anos	Cancro	↑ incidência de tumores mamários (tumor mamário especialmente)	Séralini et al., 2014
Ratos Wistar	Machos	Glifosato	10 mg/kg PV, IP	3 vezes por semana, 5 semanas	Reprodutivo	↑ <i>stress</i> oxidativo testicular, com ↑ pró-oxidativo (↑ TBARS e carbonilação de proteínas) ↓ antioxidantes (catalase); ↓ testosterona, FSH e LH	Asfiz et al., 2009c
Ratos Wistar	Fêmeas grávidas	Glifosato	500, 750 e 1000 mg/kg na água da bebida	Dia 6 ao dia 15 da gravidez	Teratogénico	↑ mortalidade descendência, dose-dependente ↑ alterações congénitas no esqueleto (ossificação incompleta e aumento da fontanela)	Dallegrave et al., 2003
Ratos Wistar	Fêmeas grávidas	Glifosato	50, 150 ou 450 mg/kg na água da bebida	Durante a gravidez (21-23d) e lactação (21d)	Reprodutivo	Exposição <i>in utero</i> e na lactação com efeitos na descendência: - machos: ↓ produção esperma, ↑ espermatozoides anormais, ↑ testosterona sérica dose-dependente. - fêmeas: atraso na abertura canal vaginal	Dallegrave et al., 2007
Murganho Albino Suíço	Machos	Glifosato	25 e 50 mg/kg PV, IP	Dose única	Cancro	Células da medula óssea com genotoxicidade: ↑ aberrações cromossômicas e micronúcleos citotoxicidade: ↓ índice mitótico	
Murganhos C57BL6	Fêmeas	Glifosato	0,25; 0,5; 1; 1,5 e 2 mg/kg, PO	5 dias/semana, 20 semanas	Reprodutivo	↑ consumo comida e peso nas doses ↑; = ciclo reprodutor e hormonas sexuais Alteração proteoma: proteínas relacionadas com GSH e vias metabólicas	Ganesan et al., 2020
Ratos Sprague Dawley	Machos e fêmeas	Roundup	0,1 ppb; 0,09% e 0,5% na água da bebida	2 anos	Reprodutivo	Fêmeas: ↓ estradiol ao longo do tempo	Séralini et al., 2014
Ratos Sprague Dawley	Machos	Roundup	5 e 250 mg/kg	30 dias	Reprodutivo	Disrupção endócrina; alterações na progressão para puberdade; ↓ produção	Romano et al., 2010

Continuação da tabela 3

						testosterona alteração morfológica testicular	
Ratos Wistar	Fêmeas grávidas	Roundup	50 mg/kg, PO	Do 8º dia gestacional até 5º dia pós-natal (exposição materna)	Reprodutivo	Descendência (machos): disrupção endócrina, com mudanças na preferência sexual do parceiro e no comportamento (aumento do tempo até primeiro cruzamento; ↑ produção esperma; ↑ produção testosterona e estradiol; ↑ gonadotropinas	Romano et al., 2012
Ratos Wistar	Fêmeas grávidas	Glifosato	0,2 ml de glifosato/ml de água da bebida	21 dias (durante gravidez)	Cardiovascular	Alteração de vias metabólicas no coração	Daruich et al., 2001
Ratos Wistar	Machos	Glifosato	375 mg/kg/dia em água, PO	56 dias	Cardiovascular	Stress oxidativo no coração (↑ malonaldeído e ↓ GSH) lesões no coração (apoptose e hemorragia	Turkmen et al. 2019

↑↓ significa aumento ou diminuição, respectivamente, = significa sem alterações. AchE: acetilcolinesterase; ADN: ácido desoxirribonucleico; d: dias; Glutamato desidrogenase; GOT: transaminase oxaloacético glutâmico; FSH: hormona foliculo-estimulante; GSH: glutatona; HBG: herbicida à base de glifosato; IP: intraperitoneal; LH: hormona luteinizante; mg/kg: miligramas por quilograma de peso; NE: norepinefrina; PO: *per os* (oral); PV: peso vivo; SOD: superóxido dismutase; TBARS: *thiobarbituric acid reactive substances* (substâncias reativas de ácido barbitúrico).

Tabela 4 – Estudos populacionais para avaliar a associação da aplicação de herbicidas à base de glifosato e as doenças

População	Género	Produto	Exposição	Efeito estudado	Efeitos principais	Referência
Filhos de aplicadores de pesticidas, n=1532	Homens e mulheres	HBG	Crónico	Neurológico	Associação entre exposição ao glifosato dos pais e maior risco de anomalias congénitas e problemas de neurodesenvolvimento, como transtorno de défice de atenção e hiperatividade	Garry et al., 2002
População com autismo, n=2961	Homens e mulheres	HBG	Crónico	Neurológico	↑ risco de autismo associado com exposição pré-natal ao glifosato risco ainda ↑ em casos de deficiência intelectual	Von Ehrenstein et al. 2019
População colombiana n=2592	Mulheres na 1ª gravidez	Regiões com diferentes usos de HBG	Crónica	Reprodutivo	↑ tempo para engravidar em zonas com maior utilização (e mais prolongada) de HBG	Sanin et al., 2009
Agricultores; n=30454	Mulheres	Aplicação de HBG	Crónica	Reprodutivo	↓ da fecundabilidade	Curtis et al., 1999
Agricultores; n=2013	Mulheres	Aplicação de HBG	Crónica	Cancro	↑ moderado do risco de tumor mamário nas mulheres que viviam próxima zona aplicação do HBG	Engel et al., 2005
Aplicadores de pesticidas, N=57311	Homens	Aplicação de HBG	Crónica	Cancro	Sem associação entre glifosato e Linfoma não-Hodgkin	Sandler e Alavanja, 2005
População canadiana, n=517	Homens	HBG	Crónica	Cancro	Sem associação entre glifosato e incidência cancro Tendência de associação com mieloma múltiplo	McDuffie et al., 2001
População sueca, n=121	Homens	HBG	Crónica	Cancro	Exposição ao glifosato com ↑ risco de leucemia	Nordström et al., 1998
Aplicadores de pesticidas dos EUA, n=54251	Homens	HBG	Crónica	Cancro	Sem associação com cancro colon/rectal	Lee et al., 2007

Continuação da tabela 4

Aplicadores de pesticidas dos EUA, n=44932 Habitantes rurais do Canadá Habitantes rurais dos EUA Indivíduos com intoxicação glifosato (n=13) Indivíduos com intoxicação glifosato (n=58) Indivíduos com intoxicação glifosato (n=93) Indivíduos com intoxicação glifosato (n=153) Aplicadores de pesticidas dos EUA, n=54609 Agricultores, n=22425	Homens	HBG	Crónica	Cancro	Aplicadores expostos há mais tempo ao glifosato com ↑ risco de leucemia mielóide aguda; sem associação em tumores sólidos	Andreotti et al., 2017
	Mulheres	HBG	Crónica	Teratogénico	Maior proximidade de locais de aplicação de HBG com ↑ risco de defeitos do tubo neural - anencefalia	Rull et al., 2006
	Mulheres	HBG	Crónica	Reprodutivo	↑ risco aborto tardio	Arbuckle et al 2001
	Homens e mulheres	HBG	Intoxicação aguda oral (suicídio ou acidental)		Morte (6/13); sintomas gastrointestinais: ulceração orofaríngea, náusea, vômitos; acidose metabólica; <i>stress</i> respiratório; arritmia cardíaca; insuficiência renal; toxicidade hepática; ↑ dose glifosato sérica associado com casos mais graves/fatais	Zouaoui et al., 2013
	Homens e mulheres	HBG	Intoxicação aguda oral		Morte (17/58) associada com toxicidade pulmonar e renal; <i>Stress</i> respiratório, acidose metabólica, taquicardia, hipercaliémia e ↑ creatinina (insuficiência renal)	Lee et al., 2008
	Homens e mulheres	HBG	Intoxicação aguda oral		Morte (7/93); ulceração e hemorragia gastrointestinal; lesões pulmões, fígado, coração e rim; hipotensão não responsiva na base das mortes	Talbot et al., 1991
	Homens e mulheres	HBG	Intoxicação aguda por exposição dérmica e oral (suicídio ou acidental)		Morte (19/153) anomalias no ECG - bloqueio atrioventricular	Kim et al., 2014
	Homens	HBG	Crónico		Cardiovascular	Sem associação com enfarte miocárdio Mills et al., 2009
	Mulheres	HBG	Crónico		Cardiovascular	Sem associação com enfarte miocárdio Dayton et al., 2010

↑↓ significa aumento ou diminuição, respetivamente. ECG: electrocardiograma; HBG: herbicida à base de glifosato.

4. Discussão e conclusão

O glifosato é um herbicida sistêmico não seletivo amplamente utilizado na agricultura. Com esta sobre-utilização que se tem vindo a assistir, alguns investigadores e clínicos defendem a existência de efeitos nefastos deste composto na saúde e no ambiente, contradizendo a classificação benévola que lhe tem sido atribuída pelos seus fabricantes. Como é o caso da companhia Monsanto, hoje pertencendo à Bayer, que garante a segurança deste composto para os humanos.

Foi com base nesta divergência, sobre a segurança *versus* toxicidade do composto que, procedemos à escolha deste tema para a elaboração da dissertação de mestrado, onde pretendemos enquadrar a utilização do glifosato no contexto atual e avaliar o estado-de-arte atual sobre os seus potenciais efeitos toxicológicos.

Uma vez que, em estudos populacionais e epidemiológicos humanos, é difícil averiguar o mecanismo de toxicidade associada ao glifosato, achou-se pertinente incluir nesta dissertação dados sobre estudos efetuados em linhas celulares (*in vitro*) e, especialmente, em modelos animais de toxicidade ao glifosato. Esses dados, aliados às várias associações e correlações encontradas nos estudos humanos, permitiram uma integração dos vários tipos de resultados e aprofundar melhor o panorama geral dos efeitos tóxicos do glifosato.

Pelo descrito nos capítulos anteriores, os efeitos do glifosato são muito variados. Ainda que, em muitos estudos o mecanismo de toxicidade não seja conhecido, a evidência não seja suficiente e faltem estudos epidemiológicos mais robustos, no global, tudo parece apontar para uma toxicidade associada a este composto e aos HBG, quer em exposições agudas, quer em exposição crónicas, no contexto ocupacional ou habitacional.

O fígado e os rins, órgãos quintessenciais no metabolismo de compostos exógenos, como os poluentes, são claramente afetados pelo glifosato, evidenciando, lesões estruturais, como sugere o aumento da fostatase alcalina e, alterações nos níveis de creatinina. Sobre os efeitos neurológicos, há uma série de estudos que abordam uma eventual relação entre o glifosato e doenças como o autismo e a doença de Parkinson, mas que requerem um aprofundamento dessa potencial ligação. No entanto, o cérebro é um órgão suscetível aos efeitos nocivos do

glifosato, com as alterações originadas pelo stress oxidativo e pelos neurotransmissores a motivarem mais estudos.

Sobre o cancro, a IARC (2015) classificou o glifosato como potencialmente carcinogénico e parece haver alguns dados que apontam nesse sentido, em particular nos cancros linfomatomatóicos. Outros estudos, no entanto, rejeitam esta classificação.

O glifosato parece, ainda, ser responsável pela existência de problemas de ordem reprodutiva relacionados com a gravidez e com alguns efeitos teratogénicos sobre o feto, efeitos que carecem, contudo, de uma análise mais aprofundada.

Os casos de intoxicação aguda por glifosato revelam outro tipo de sintomatologia, associada a outros efeitos tóxicos, diversos dos relacionados com a exposição crónica e ambiental. Nestes casos mais agudos, muito associado a elevadas doses, existem lesões ao nível do trato gastrointestinal, *stress* respiratório e metabólico, taquicardia, insuficiência renal e em algumas situações, morte (ver **tabela 4**).

No entanto, os vários estudos abordados e os seus resultados têm algumas limitações. Muitos dos estudos epidemiológicos que avaliam o efeito da exposição aos HBG/glifosato não fazem análises ao glifosato, nomeadamente através da sua quantificação em circulação ou na urina. Tal seria essencial para se aprofundar melhor a relação, permitindo relacionar o teor de glifosato no organismo com os potenciais efeitos tóxicos e chegar a uma conclusão acerca da toxicidade ou segurança do composto (Agostini et al., 2020).

Um outro aspeto que importa salientar é que, em muitos casos, a toxicidade da formulação do HBG (e.g. Roundup) é maior que a toxicidade do glifosato *per se*. Tal advém da toxicidade dos adjuvantes utilizados nos vários produtos, que podem ser tóxicos, ter um efeito sinérgico com o glifosato, ou facilitar o *uptake* do glifosato, aumentando a carga do composto nos organismos. Por exemplo, o POEA, um dos principais adjuvantes utilizados nos HBG, mostrou ser mais tóxico que o glifosato *in vitro*, tendo também consequências nefastas em humanos e animais (R. Mesnage, Bernay, & Séralini, 2013; Robin Mesnage et al., 2015).

Assim, conclui-se que apesar dos resultados de toxicidade celular *in vitro* e dos dados obtidos em estudos *in vivo* que, apontam para o efeito prejudicial deste composto, a evidência em estudos humanos ainda é limitada. Dessa forma, não é possível, com rigor, contrariar as

várias recomendações de segurança das entidades reguladoras. Existem dados que, de facto, sugerem a toxicidade deste herbicida em humanos, mas carece de aprofundamento e de estudos epidemiológicos e populacionais mais rigorosos.

Em particular, as metodologias dos estudos futuros devem incluir a quantificação dos níveis de glifosato e dos metabolitos em amostras biológicas humanas. Devem também caracterizar melhor os padrões de exposição (o nível, a duração e de que forma ocorreu), de forma a ser possível dizer, com rigor, se o glifosato é seguro ou não, na forma como tem sido utilizado (Agostini et al., 2020).

5. Referências bibliográficas

- Agostini, L. P., Dettogni, R. S., dos Reis, R. S., Stur, E., dos Santos, E. V. W., Ventrone, D. P., . . . Louro, I. D. (2020). Effects of glyphosate exposure on human health: Insights from epidemiological and in vitro studies. *Science of the Total Environment*, 705, 135808.
- Alimentarius, C. (2013). Pesticide Residues in Food and Feed: 158 Glyphosate. *Food and Agriculture Organization and World Health Organization* <http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/details.html>.
- Alvarez-Moya, C., Reynoso Silva, M., Valdez Ramírez, C., Gómez Gallardo, D., León Sánchez, R., Canales Aguirre, A., & Feria Velasco, A. (2014). Comparison of the in vivo and in vitro genotoxicity of glyphosate isopropylamine salt in three different organisms. *Genetics and molecular biology*, 37(1), 105-110.
- American Psychiatric, A. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®)*: American Psychiatric Pub.
- Andreotti, G., Koutros, S., Hofmann, J. N., Sandler, D. P., Lubin, J. H., Lynch, C. F., . . . Alavanja, M. C. (2018). Glyphosate use and cancer incidence in the agricultural health study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 110(5), 509-516.
- Arbuckle, T. E., Lin, Z., & Mery, L. S. (2001). An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. *Environmental health perspectives*, 109(8), 851-857.
- Arregui, M. C., Lenardón, A., Sanchez, D., Maitre, M. I., Scotta, R., & Enrique, S. (2004). Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 60(2), 163-166.
- Astiz, M., de Alaniz, M. J. T., & Marra, C. A. (2009a). Antioxidant defense system in rats simultaneously intoxicated with agrochemicals. *Environmental toxicology and pharmacology*, 28(3), 465-473.
- Astiz, M., de Alaniz, M. J. T., & Marra, C. A. (2009b). Effect of pesticides on cell survival in liver and brain rat tissues. *Ecotoxicology and environmental safety*, 72(7), 2025-2032.

- Astiz, M., de Alaniz, M. J. T., & Marra, C. A. (2009c). The impact of simultaneous intoxication with agrochemicals on the antioxidant defense system in rat. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 94(2-3), 93-99.
- Bai, S. H., & Ogbourne, S. M. (2016). Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(19), 18988-19001.
- Baier, C. J., Gallegos, C. E., Raisman-Vozari, R., & Minetti, A. (2017). Behavioral impairments following repeated intranasal glyphosate-based herbicide administration in mice. *Neurotoxicology and Teratology*, 64, 63-72.
- Benbrook, C. M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 3.
- Bergström, L., Börjesson, E., & Stenström, J. (2011). Laboratory and lysimeter studies of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in a sand and a clay soil. *Journal of Environmental Quality*, 40(1), 98-108.
- Bøhn, T., Cuhra, M., Traavik, T., Sanden, M., Fagan, J., & Primicerio, R. (2014). Compositional differences in soybeans on the market: glyphosate accumulates in Roundup Ready GM soybeans. *Food chemistry*, 153, 207-215.
- Caballero, M., Amiri, S., Denney, J. T., Monsivais, P., Hystad, P., & Amram, O. (2018). Estimated residential exposure to agricultural chemicals and premature mortality by Parkinson's disease in Washington State. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(12), 2885.
- Cattani, D., Cavalli, V. L. d. L. O., Rieg, C. E. H., Domingues, J. T., Dal-Cim, T., Tasca, C. I., . . . Zamonier, A. (2014). Mechanisms underlying the neurotoxicity induced by glyphosate-based herbicide in immature rat hippocampus: involvement of glutamate excitotoxicity. *Toxicology*, 320, 34-45.
- Chan, Y.-C., Chang, S.-C., Hsuan, S.-L., Chien, M.-S., Lee, W.-C., Kang, J.-J., . . . Liao, J.-W. (2007). Cardiovascular effects of herbicides and formulated adjuvants on isolated rat aorta and heart. *Toxicology in vitro*, 21(4), 595-603.
- Chang, E. T., & Delzell, E. (2016). Systematic review and meta-analysis of glyphosate exposure and risk of lymphohematopoietic cancers. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51(6), 402-434.

- Correa, E. A., Dayan, F. E., Owens, D. K., Rimando, A. M., & Duke, S. O. (2016). Glyphosate-resistant and conventional canola (*Brassica napus* L.) responses to glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) treatment. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(18), 3508-3513.
- Curtis, K. M., Savitz, D. A., Weinberg, C. R., & Arbuckle, T. E. (1999). The effect of pesticide exposure on time to pregnancy. *Epidemiology*, 112-117.
- Dallegrave, E., Mantese, F. D., Coelho, R. S., Pereira, J. D., Dalsenter, P. R., & Langeloh, A. (2003). The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup® in Wistar rats. *Toxicology letters*, 142(1-2), 45-52.
- Dallegrave, E., Mantese, F. D., Oliveira, R. T., Andrade, A. J. M., Dalsenter, P. R., & Langeloh, A. (2007). Pre-and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats. *Archives of Toxicology*, 81(9), 665-673.
- Damalas, C. A., & Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International journal of environmental research and public health*, 8(5), 1402-1419.
- Daruich, J., Zirulnik, F., & Gimenez, M. a. S. a. (2001). Effect of the herbicide glyphosate on enzymatic activity in pregnant rats and their fetuses. *Environmental research*, 85(3), 226-231.
- Dayton, S. B., Sandler, D. P., Blair, A., Alavanja, M., Freeman, L. E. B., & Hoppin, J. A. (2010). Pesticide use and myocardial infarction incidence among farm women in the agricultural health study. *Journal of occupational and environmental medicine/American College of Occupational and Environmental Medicine*, 52(7), 693.
- De Roos, A. J., Blair, A., Rusiecki, J. A., Hoppin, J. A., Svec, M., Dosemeci, M., . . . Alavanja, M. C. (2005). Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Environmental health perspectives*, 113(1), 49-54.
- Demichelli, F. N., Moura, G. S., Franzener, G., Bitencourt, T. B., dos Passos Francisco, C. T., & Cazarolli, L. H. (2020). Caracterização de microrganismos isolados de solo contaminado com Glifosato na região sul do Brasil/Characterization of

- microorganisms isolated from soil contaminated with Glyphosate in southern Brazil. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 3(1), 2-8.
- Engel, L. S., Hill, D. A., Hoppin, J. A., Lubin, J. H., Lynch, C. F., Pierce, J., . . . Alavanja, M. C. (2005). Pesticide use and breast cancer risk among farmers' wives in the agricultural health study. *American Journal of Epidemiology*, 161(2), 121-135.
- European Food Safety, A. (2015). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate. *EFSA Journal*, 13(11), 4302.
- Fritschi, L., McLaughlin, J., Sergi, C. M., Calaf, G. M., Le Curieux, F., Forastiere, F., . . . Jameson, C. W. (2015). Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *Red*, 114(2), 70134-70138.
- Gallegos, C. E., Baier, C. J., Bartos, M., Bras, C., Domínguez, S., Mónaco, N., . . . Minetti, A. (2018). Perinatal glyphosate-based herbicide exposure in rats alters brain antioxidant status, glutamate and acetylcholine metabolism and affects recognition memory. *Neurotoxicity research*, 34(3), 363-374.
- Ganesan, S., & Keating, A. F. (2020). Ovarian mitochondrial and oxidative stress proteins are altered by glyphosate exposure in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 402, 115116.
- Garry, V. F., Harkins, M. E., Erickson, L. L., Long-Simpson, L. K., Holland, S. E., & Burroughs, B. L. (2002). Birth defects, season of conception, and sex of children born to pesticide applicators living in the Red River Valley of Minnesota, USA. *Environmental health perspectives*, 110(suppl 3), 441-449.
- Gasnier, C., Dumont, C., Benachour, N., Clair, E., Chagnon, M.-C., & Séralini, G.-E. (2009). Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology*, 262(3), 184-191.
- Gomes, M. P., Le Manac'h, S. G., Maccario, S., Labrecque, M., Lucotte, M., & Juneau, P. (2016). Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plants. *Pesticide biochemistry and physiology*, 130, 65-70.
- Granby, K., Johannesen, S., & Vahl, M. (2003). Analysis of glyphosate residues in cereals using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS). *Food Additives & Contaminants*, 20(8), 692-698.

- Greim, H., Saltmiras, D., Mostert, V., & Strupp, C. (2015). Evaluation of carcinogenic potential of the herbicide glyphosate, drawing on tumor incidence data from fourteen chronic/carcinogenicity rodent studies. *Critical reviews in toxicology*, 45(3), 185-208.
- Gress, S., Lemoine, S., Séralini, G.-E., & Puddu, P. E. (2015). Glyphosate-based herbicides potentially affect cardiovascular system in mammals: review of the literature. *Cardiovascular toxicology*, 15(2), 117-126.
- Gui, Y.-x., Fan, X.-n., Wang, H.-m., & Wang, G. (2012). Glyphosate induced cell death through apoptotic and autophagic mechanisms. *Neurotoxicology and teratology*, 34(3), 344-349.
- Helander, M., Saloniemi, I., & Saikkonen, K. (2012). Glyphosate in northern ecosystems. *Trends in plant science*, 17(10), 569-574.
- Herrmann, K. M., & Weaver, L. M. (1999). The shikimate pathway. *Annual review of plant biology*, 50(1), 473-503.
- Jayasumana, C., Gunatilake, S., & Siribaddana, S. (2015). Simultaneous exposure to multiple heavy metals and glyphosate may contribute to Sri Lankan agricultural nephropathy. *BMC nephrology*, 16(1), 103.
- Kamel, F., Tanner, C. M., Umbach, D. M., Hoppin, J. A., Alavanja, M. C. R., Blair, A., . . . Langston, J. W. (2007). Pesticide exposure and self-reported Parkinson's disease in the agricultural health study. *American journal of epidemiology*, 165(4), 364-374.
- Kamijo, Y., Takai, M., & Sakamoto, T. (2016). A multicenter retrospective survey of poisoning after ingestion of herbicides containing glyphosate potassium salt or other glyphosate salts in Japan. *Clinical toxicology*, 54(2), 147-151.
- Kano, H., Umeda, Y., Kasai, T., Sasaki, T., Matsumoto, M., Yamazaki, K., . . . Fukushima, S. (2009). Carcinogenicity studies of 1, 4-dioxane administered in drinking-water to rats and mice for 2 years. *Food and chemical toxicology*, 47(11), 2776-2784.
- Kašuba, V., Milić, M., Rozgaj, R., Kopjar, N., Mladinić, M., Žunec, S., . . . Pizent, A. (2017). Effects of low doses of glyphosate on DNA damage, cell proliferation and oxidative stress in the HepG2 cell line. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(23), 19267-19281.

- Kier, L. D., & Kirkland, D. J. (2013). Review of genotoxicity studies of glyphosate and glyphosate-based formulations. *Critical reviews in toxicology*, 43(4), 283-315.
- Kim, Y. H., Lee, J. H., Hong, C. K., Cho, K. W., Park, Y. H., Kim, Y. W., & Hwang, S. Y. (2014). Heart rate-corrected QT interval predicts mortality in glyphosate-surfactant herbicide-poisoned patients. *The American Journal of Emergency Medicine*, 32(3), 203-207.
- Krüger, M., Schledorn, P., Schrödl, W., Hoppe, H.-W., Lutz, W., & Shehata, A. A. (2014). Detection of glyphosate residues in animals and humans. *J Environ Anal Toxicol*, 4(2), 1-5.
- Krüger, M., Schrödl, W., Neuhaus, J., & Shehata, A. A. (2013). Field investigations of glyphosate in urine of Danish dairy cows. *J Environ Anal Toxicol*, 3(5), 100186.
- Kwiatkowska, M., Reszka, E., Woźniak, K., Jabłońska, E., Michałowicz, J., & Bukowska, B. (2017). DNA damage and methylation induced by glyphosate in human peripheral blood mononuclear cells (in vitro study). *Food and Chemical Toxicology*, 105, 93-98.
- Lee, C.-H., Shih, C.-P., Hsu, K.-H., Hung, D.-Z., & Lin, C.-C. (2008). The early prognostic factors of glyphosate-surfactant intoxication. *The American journal of emergency medicine*, 26(3), 275-281.
- Lee, W. J., Sandler, D. P., Blair, A., Samanic, C., Cross, A. J., & Alavanja, M. C. R. (2007). Pesticide use and colorectal cancer risk in the Agricultural Health Study. *International journal of cancer*, 121(2), 339-346.
- Li, Q., Lambrechts, M. J., Zhang, Q., Liu, S., Ge, D., Yin, R., . . . You, Z. (2013). Glyphosate and AMPA inhibit cancer cell growth through inhibiting intracellular glycine synthesis. *Drug design, development and therapy*, 7, 635.
- Malatesta, M., Perdoni, F., Santin, G., Battistelli, S., Muller, S., & Biggiogera, M. (2008). Hepatoma tissue culture (HTC) cells as a model for investigating the effects of low concentrations of herbicide on cell structure and function. *Toxicology in vitro*, 22(8), 1853-1860.
- Mamy, L., Barriuso, E., & Gabrielle, B. (2016). Glyphosate fate in soils when arriving in plant residues. *Chemosphere*, 154, 425-433.

- Manfo, F. P. T., Mboe, S. A., Nantia, E. A., Ngoula, F., Telefo, P. B., Moundipa, P. F., & Cho-Ngwa, F. (2020). Evaluation of the effects of agro pesticides use on liver and kidney function in farmers from Buea, Cameroon. *Journal of Toxicology*, 2020.
- Maqueda, C., Undabeytia, T., Villaverde, J., & Morillo, E. (2017). Behaviour of glyphosate in a reservoir and the surrounding agricultural soils. *Science of the Total Environment*, 593, 787-795.
- Martínez, M.-A., Ares, I., Rodríguez, J.-L., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M.-R., & Anadón, A. (2018). Neurotransmitter changes in rat brain regions following glyphosate exposure. *Environmental research*, 161, 212-219.
- Mañas, F., Peralta, L., Raviolo, J., Ovando, H. G., Weyers, A., Ugnia, L., . . . Gorla, N. (2009). Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Environmental toxicology and pharmacology*, 28(1), 37-41.
- McDuffie, H. H., Pahwa, P., McLaughlin, J. R., Spinelli, J. J., Fincham, S., Dosman, J. A., . . . Choi, N. W. (2001). Non-Hodgkin's lymphoma and specific pesticide exposures in men: cross-Canada study of pesticides and health. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 10(11), 1155-1163.
- Mesnage, R., Bernay, B., & Séralini, G. E. (2013). Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity. *Toxicology*, 313(2-3), 122-128.
- Mesnage, R., Defarge, N., De Vendômois, J. S., & Seralini, G. E. (2015). Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits. *Food and Chemical Toxicology*, 84, 133-153.
- Mesnage, R., Phedonos, A., Biserni, M., Arno, M., Balu, S., Corton, J. C., . . . Antoniou, M. N. (2017). Evaluation of estrogen receptor alpha activation by glyphosate-based herbicide constituents. *Food and Chemical Toxicology*, 108, 30-42.
- Mills, K. T., Blair, A., Freeman, L. E. B., Sandler, D. P., & Hoppin, J. A. (2009). Pesticides and myocardial infarction incidence and mortality among male pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *American journal of epidemiology*, 170(7), 892-900.
- Mink, P. J., Mandel, J. S., Scurman, B. K., & Lundin, J. I. (2012). Epidemiologic studies of glyphosate and cancer: a review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 63(3), 440-452.

- Mladinic, M., Berend, S., Vrdoljak, A. L., Kopjar, N., Radic, B., & Zeljezic, D. (2009). Evaluation of genome damage and its relation to oxidative stress induced by glyphosate in human lymphocytes in vitro. *Environmental and molecular mutagenesis*, 50(9), 800-807.
- Mladinic, M., Perkovic, P., & Zeljezic, D. (2009). Characterization of chromatin instabilities induced by glyphosate, terbuthylazine and carbofuran using cytome FISH assay. *Toxicology letters*, 189(2), 130-137.
- Myers, J. P., Antoniou, M. N., Blumberg, B., Carroll, L., Colborn, T., Everett, L. G., . . . Mesnage, R. (2016). Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement. *Environmental Health*, 15(1), 1-13.
- Nordström, M., Hardell, L., Magnuson, A., Hagberg, H., & Rask-Andersen, A. (1998). Occupational exposures, animal exposure and smoking as risk factors for hairy cell leukaemia evaluated in a case-control study. *British journal of cancer*, 77(11), 2048-2052.
- Oliveira, A. B., & Henriques, M. (2011). Guia dos produtos fitofarmacêuticos. Lista dos produtos com venda autorizada. *MADRP. DGADR*.
- Olorunsogo, O. O. (1990). Modification of the transport of protons and Ca²⁺ ions across mitochondrial coupling membrane by N-(phosphonomethyl) glycine. *Toxicology*, 61(2), 205-209.
- Peixoto, F. (2005). Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. *Chemosphere*, 61(8), 1115-1122.
- Prasad, S., Srivastava, S., Singh, M., & Shukla, Y. (2009). Clastogenic effects of glyphosate in bone marrow cells of Swiss albino mice. *Journal of toxicology*, 2009.
- Reddy, K. N., Rimando, A. M., Duke, S. O., & Nandula, V. K. (2008). Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(6), 2125-2130.
- Romano, M. A., Romano, R. M., Santos, L. D., Wisniewski, P., Campos, D. A., de Souza, P. B., . . . de Oliveira, C. A. (2012). Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. *Archives of toxicology*, 86(4), 663-673.

- Romano, R. M., Romano, M. A., Bernardi, M. M., Furtado, P. V., & Oliveira, C. A. (2010). Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. *Archives of toxicology*, 84(4), 309-317.
- Rose, S., Melnyk, S., Pavliv, O., Bai, S., Nick, T. G., Frye, R. E., & James, S. J. (2012). Evidence of oxidative damage and inflammation associated with low glutathione redox status in the autism brain. *Translational psychiatry*, 2(7), e134-e134.
- Rull, R. P., Ritz, B., & Shaw, G. M. (2006). Neural tube defects and maternal residential proximity to agricultural pesticide applications. *American journal of epidemiology*, 163(8), 743-753.
- Samsel, A., & Seneff, S. (2013). Glyphosate's suppression of cytochrome P450 enzymes and amino acid biosynthesis by the gut microbiome: pathways to modern diseases. *Entropy*, 15(4), 1416-1463.
- Samsel, A., & Seneff, S. (2015a). Glyphosate, pathways to modern diseases III: Manganese, neurological diseases, and associated pathologies. *Surgical neurology international*, 6.
- Samsel, A., & Seneff, S. (2015b). Glyphosate, pathways to modern diseases IV: cancer and related pathologies. *J. Biol. Phys. Chem*, 15, 121-159.
- Sanin, L.-H., Carrasquilla, G., Solomon, K. R., Cole, D. C., & Marshall, E. J. P. (2009). Regional differences in time to pregnancy among fertile women from five Colombian regions with different use of glyphosate. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 72(15-16), 949-960.
- Santovito, A., Ruberto, S., Gendusa, C., & Cervella, P. (2018). In vitro evaluation of genomic damage induced by glyphosate on human lymphocytes. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(34), 34693-34700.
- Savitz, D. A., Arbuckle, T., Kaczor, D., & Curtis, K. M. (1997). Male pesticide exposure and pregnancy outcome. *American Journal of Epidemiology*, 146(12), 1025-1036.
- Schinasi, L., & Leon, M. E. (2014). Non-Hodgkin lymphoma and occupational exposure to agricultural pesticide chemical groups and active ingredients: a systematic review and meta-analysis. *International journal of environmental research and public health*, 11(4), 4449-4527.

- Sealey, L. A., Hughes, B. W., Sriskanda, A. N., Guest, J. R., Gibson, A. D., Johnson-Williams, L., . . . Bagasra, O. (2016). Environmental factors in the development of autism spectrum disorders. *Environment international*, 88, 288-298.
- Swanson, N. L., Leu, A., Abrahamson, J., & Wallet, B. (2014). Genetically engineered crops, glyphosate and the deterioration of health in the United States of America. *Journal of Organic Systems*, 9(2), 6-37.
- Séralini, G.-E., Clair, E., Mesnage, R., Gress, S., Defarge, N., Malatesta, M., . . . de Vendômois, J. S. (2014). Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Environmental Sciences Europe*, 26(1), 14.
- Talbot, A. R., Shiaw, M.-H., Huang, J.-S., Yang, S.-F., Goo, T.-S., Wang, S.-H., . . . Sanford, T. R. (1991). Acute poisoning with a glyphosate-surfactant herbicide ('Roundup'): a review of 93 cases. *Human & experimental toxicology*, 10(1), 1-8.
- Turkmen, R., Birdane, Y. O., Demirel, H. H., Kabu, M., & Ince, S. (2019). Protective effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress, biochemical and histopathological changes induced by sub-chronic oral glyphosate-based herbicide in rats. *Toxicology research*, 8(2), 238-245.
- Van Bruggen, A. H. C., He, M. M., Shin, K., Mai, V., Jeong, K. C., Finckh, M. R., & Morris Jr, J. G. (2018). Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment*, 616, 255-268.
- Vigfusson, N. V., & Vyse, E. R. (1980). The effect of the pesticides, Dexon, Captan and Roundup, on sister-chromatid exchanges in human lymphocytes in vitro. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 79(1), 53-57.
- von Ehrenstein, O. S., Ling, C., Cui, X., Cockburn, M., Park, A. S., Yu, F., . . . Ritz, B. (2019). Prenatal and infant exposure to ambient pesticides and autism spectrum disorder in children: population based case-control study. *Bmj*, 364.
- Williams, G. M., Aardema, M., Acquavella, J., Berry, S. C., Brusick, D., Burns, M. M., . . . Kier, L. D. (2016). A review of the carcinogenic potential of glyphosate by four independent expert panels and comparison to the IARC assessment. *Critical Reviews in Toxicology*, 46(sup1), 3-20.

- World Health, O. (2017). *Pesticide residues in food-2016: toxicological evaluations. Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues, Geneva, Switzerland, 9-13 May 2016.*
- Yao, J., Irwin, R. W., Zhao, L., Nilsen, J., Hamilton, R. T., & Brinton, R. D. (2009). Mitochondrial bioenergetic deficit precedes Alzheimer's pathology in female mouse model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(34), 14670-14675.
- Zhang, F., Pan, L. P., Ding, E. M., Ge, Q. J., Zhang, Z. H., Xu, J. N., . . . Zhu, B. L. (2017). Study of the effect of occupational exposure to glyphosate on hepatorenal function. *Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine]*, 51(7), 615-620.
- Zouaoui, K., Dulaurent, S., Gaulier, J. M., Moesch, C., & Lachâtre, G. (2013). Determination of glyphosate and AMPA in blood and urine from humans: About 13 cases of acute intoxication. *Forensic Science International*, 226(1-3), e20-e25.
- PubChem. (1 de Dezembro de 2020). Obtido de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3496#section=2D-Structure>
- Singh, S., Kumar, V., Gill, J. P., Datta, S., Singh, S., Dhaka, V., . . . Singh, J. (2020). Herbicide Glyphosate: Toxicity and Microbial Degradation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9.